UNTERSUCHUNGEN AN RATTEN ZUR KAUSALEN GENESE DER GESCHLECHTSUNTERSCHIEDLICHEN PROLACTIN-SEKRETION

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
des
Fachbereiches Biologie (FB 23)
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Sybille Beier
aus Berlin

Berlin 1974

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546512_0089

UNTERSUCHUNGEN AN RATTEN ZUR KAUSALEN GENESE DER GESCHLECHTSUNTERSCHIEDLICHEN PROLACTIN-SEKRETION

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der Doktorwürde
des
Fachbereiches Biologie (FB 23)
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Sybille Beier
aus Berlin

Berlin 1974

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

1. Referent: Priv.-Doz. Dr. F. Neumann

2. Referent: Prof. Dr. R. Keller

Tag der mündlichen Prüfung: 26. April 1974

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
I.	EINLEITUNG	
1.1.	Das Hypophysenvorderlappenhormon PROLACTIN	1
1.2.	Die Wirkung von PROLACTIN auf die Milchdrüse	2
1.2.1.	Die endokrine Steuerung des Milchdrüsenwachstums	3
1.2.2.	Übersicht über den mammogenen Hormonkomplex	5
1.3.	Die Wirkung von PROLACTIN im männlichen Organismus	8
1.4.	Der neuroendokrine Regelkreis des PROLACTINS	9
1.5.	Problemstellung des Experiments	15
II.	MATERIAL UND METHODEN	17
2.1.	Tiermaterial und Behandlung	17
2.1.1.	Einteilung der Gruppen	19
2.2.	Milchdrüsengewicht	25
2.3.	Whole Mount Preparation (Ausschnittpräparate)	25
2.4.	Milchdrüsen-Histologie	26
2.5.	DNA-Bestimmung	26
2.6.	Radioimmunologische Serum-Prolactin-Bestimmung	29
2.7.	Nebennieren-Gewicht	32
III.	ERGEBNISSE	33
3.1.	Whole Mount Preparation (Ausschnittpräparate)	38
3.2.	Milchdrüsen-Histologie	46

3.3. DNA-Bestimmung 54
3.4. Milchdrüsengewicht 60
3.5. Radioimmunologische Serum-Prolactin-Bestimmung 64
3.6. Nebennieren-Gewicht 66

IV. DISKUSSION 69

4.1. Aufgabenstellung der Arbeit 69
4.2. Begründung des Versuchsmodells 70
4.3. Interpretation der Ergebnisse 73

V. ZUSAMMENFASSUNG 78

VI. LITERATURVERZEICHNIS 80

VII. DANKSAGUNG 99

VIII. LEBENSLAUF 100

I. EINLEITUNG

1.1. DAS HYPOPHYSENVORDERLAPPENHORMON P R O L A C T I N

Die gonadotrope Wirkung von Hypophysenvorderlappenextrakten wurde im Jahre 1927 von ASCHHEIM und ZONDEK entdeckt. Bei der Wiederholung der Versuche stellten STRICKER und GRUETER 1928 die Bedeutung dieser Extrakte für die Milchdrüse fest: Bei pseudograviden Kaninchen trat nach Gabe von Hypophysenvorderlappen-Extrakten reichliche Milchbildung in den entwickelten, aber noch nicht sezernierenden Drüsen ein. Zu den gleichen Ergebnissen kam man bei Versuchen mit Kühen, Schweinen und Hunden (STRICKER und GRUETER 1928, 1929). 1929 gelang es der Gruppe EHRHARDT, WIESBACHER und FOSCANEANU bei Rhesusaffen Brustdrüsenschwellung und Colostrumbildung hervorzurufen, nachdem man die Tiere vier Wochen lang mit Hypophysenvorderlappen-Extrakten behandelt hatte.

Es vergingen 5 Jahre nach den ersten Beobachtungen von STRICKER und GRUETER bis 1933 RIDDLE, BATES und DYKSHORN eine Substanz aus dem Hypophysenvorderlappen isolierten, der sie die mammogenen Effekte des Hypophysenvorderlappens zuschrieben. Dieser Substanz gaben sie den Namen P R O L A C T I N . Ferner konnten sie feststellen, daß Tauben die Injektion von PROLACTIN in die Kropfhaut mit einer Gewebsreaktion beantworten, die in einem linearen Verhältnis zur gespritzten Dosis steht. Diese Feststellung bildete auch die Basis zur Einführung eines biologischen PROLACTIN-Testes, des sogenannten Taubenkropftestes (RIDDLE und BATES 1939), der noch bis heute eine Prolactinbestimmung mit internationalem Standard geblieben ist.

PROLACTIN gehört in die Gruppe der Proteohormone. Es hat ein Molekulargewicht von 24.200 und sein IEP liegt bei pH 5,6 - 5,7 (LI et al. 1941, 1942; WHITE et al. 1942; LI und EVANS 1948, 1957; LI 1952; LI et al. 1954; LI und COLE 1955; COLE et al. 1957; LI und CUMMINS 1958).

Der Hypophysenvorderlappen setzt sich aus Strängen epithelialer Zellen zusammen, die von einem Kapillarnetz durchzogen sind. Für die Produktion der verschiedenen Vorderlappenhormone ist jeweils ein besonderer Zelltyp verantwortlich. Nur über verschiedene Färbemethoden (z.B. Azanfärbung; PAS-Methode = Periodate Acid Schiffs Reagenz) ist die Differenzierung der einzelnen Zelltypen möglich.
Azidophile Zellen konnten als PROLACTIN - Syntheseort identifiziert werden (FARQUAR und RINEHART 1954; HYMER, McSHANN und CHRISTIANSEN 1961; BARRNETT, ROTH und SALZER 1961; PURVES 1961; RENNELS 1962; GIROD 1962, 1964; EMMART, SPICER und BATES 1963; PASTEELS 1963; BENOIT und DALAGE 1963; TIXIER-VIDAL 1963; OLIVEREAU 1963; DESCLIN 1963; BARNES 1963; EMMART, BATES und TURNER 1965; GROSVENOR, McCANN und NALLAR 1965).

1.2. DIE WIRKUNG VON PROLACTIN AUF DIE MILCHDRÜSE

Die Hauptfunktion übt das PROLACTIN auf die Milchdrüse aus. Hier ist es maßgeblich beteiligt an der Proliferation des Sekretionsgewebes und an der Auslösung der Laktation.
Die Milchdrüse ist das Erfolgsorgan für PROLACTIN, das weibliche und männliche Ratten gemeinsam haben. Die Untersuchungen der Milchdrüse bildeten aus diesem Grunde das Fundament für die Versuche der vorliegenden Arbeit. Deshalb sei im folgenden eine kurze Übersicht über wesentliche Punkte, die zum Verständnis dieser Arbeit beitragen, gegeben.

1.2.1. Die endokrine Steuerung des Milchdrüsenwachstums

An der Milchdrüse kommt es vor der Pubertät zur Ausbildung eines nur mäßig ausgedehnten Gangsystems, das reichlich Fett- und Bindegewebe aufweist (MYERS 1916, 1917, 1919; COWIE 1949; SILVER 1953 a), 1953 b); REECE 1958). LYONS und Mitarbeiter bestätigten mit ihren Untersuchungen 1958 die Vermutung, daß, da bis zum Zeitpunkt der einsetzenden Pubertät das Wachstum isometrisch verläuft, STH wie für den übrigen Körper das entscheidende Wachstumsstimulans für die Milchdrüse darstellt. Einen Wandel in der endokrinen Steuerung des Milchdrüsenwachstums löst das Einsetzen der Ovarfunktion aus, mit der es zur Ausreifung zum fortpflanzungsfähigen, adulten Individuum kommt. Dann nämlich werden vermehrt Keimdrüsenhormone ausgeschüttet. Die Hormone Östradiol, Progesteron und PROLACTIN verdrängen den bis dahin beherrschenden Einfluß des STH. Gleichzeitig kann das allometrische Wachstum der Milchdrüsen beobachtet werden (HUXLEY 1936; COWIE 1949; SILVER 1953 b); REECE 1958; MAYER und KLEIN 1960; COWIE und FOLLEY 1961; SINHA und TUCKER 1966).

Die Verzweigungsstruktur des Gangsystems nimmt stark zu. Aus den Wänden der Tubuli sprossen Epithelverdichtungen hervor, die das System der End- und Seitenknospen bilden. In der Schwangerschaft werden diese End- und Seitenknospen durch Lumenbildung zu Acini und schließlich zu Alveolen. Bindegewebssepten, die als Leitschienen des Wachstums dienen, unterteilen die Milchdrüse in Lobuli (STEINBECK 1969).
Ein wichtiges Ergebnis brachten die Versuche von TRAURIG und MORGAN (1964 a.,b.), die neben vielen anderen Autoren (SMELSER 1933; REECE, TURNER und HILL 1936; REECE und LEONARD 1939, 1941, 1942; REECE, BARTLETT und HATHAWAY 1940; REECE und BIVINS 1942;

REECE und LEATHEM 1945; BENSON, COWIE, COX, FLUX und FOLLEY 1955; BENSON, COWIE, COX und GOLDZVEIG 1957; HÖHN 1957; BENSON, COWIE, FOLLEY und TINDAL 1959; LYONS, LI und JOHNSON 1958) nachweisen konnten,

- daß das Gangsystem durch Östrogene allein stimuliert wird,
- daß die Differenzierung zum lobulo-alveolären Aufbau der Milchdrüse hauptsächlich der stimulierenden Wirkung des Progesterons zuzuschreiben ist, und
- daß das Zusammenwirken beider Hormone nicht nur eine Addition der obengenannten Wirkungen hervorruft, sondern daß es zu einer Beschleunigung der proliferierenden und der differenzierenden Prozesse kommt.

Versuche an hypophysektomierten Tieren haben jedoch gezeigt, daß eine Abhängigkeit des Milchdrüsenaufbaus von der Hypophyse und im besonderen von PROLACTIN besteht. Die Keimdrüsenhormone rufen, wenn überhaupt, dann nur eine minimale Stimulierung des Milchdrüsenwachstums hervor, wenn nicht ein Zusammenwirken mit dem hypophysären Hormonkomplex gewährleistet ist (LYONS und PENCHARZ 1936; REECE und TURNER 1936; GOMEZ und TURNER 1936, 1937; NATHANSON, SHAW und FRANSEEN 1939; REECE und LEONARD 1941; GARDNER und WHITE 1941, 1942; LEONARD und REECE 1942; MIXNER und TURNER 1942, 1943; GOMEZ 1942; LYONS, SIMPSEN und EVANS 1942, 1943; LYONS 1943, 1950; REECE und LEATHEM 1945; MAYER und KLEIN 1948; TRENTIN und TURNER 1948; HAHN und TURNER 1966). Die von FREUD (1935), NELSON (1935) und RUINEN (1932) erzielten gegenteiligen Versuchsergebnisse beruhen mit großer Wahrscheinlichkeit auf nicht ganz geglückten Operationen (STEINBECK 1969); denn zusammen mit injizierten Ovarhormonen genügen schon kleinste

Reste der Hypophyse, um eine deutliche Stimulierung der Milchdrüsen zu bewirken (GOMEZ und TURNER 1937; GOMEZ, TURNER und GARDNER 1937; REECE und LEONARD 1941; LEONARD und REECE 1942).

PROLACTIN ist das wichtigste hypophysäre Hormon im mammogenen Hormonkomplex. Ohne eine PROLACTIN-Behandlung ist bei hypophysektomierten Tieren ein lobulo-alveolärer Parenchymaufbau der Milchdrüse nicht zu erreichen (REECE und LEONARD 1939, 1942; LYONS, SIMPSON und EVANS 1942; LYONS 1943, 1958; NELSON 1950, 1952; LYONS, LI und COLE 1953; LYONS, LI und JOHNSON 1956, 1958; FLUX 1958).
1955 konnten MIZUNO, IIDA und NAITO an Hand ihrer Versuche zeigen, daß PROLACTIN neben der Stimulation des Gangwachstums und des lobulo-alveolären Aufbaus auch die Proliferation des Sekretionsgewebes und die Auslösung der Laktation wesentlich beeinflußt.

1.2.2. Übersicht über den mammogenen Hormonkomplex

Der mammogene Hormonkomplex besteht aus mindestens fünf Hormonen (STEINBECK 1969).
PROLACTIN nimmt dabei die vorherrschende Stellung ein.
Die fünf Substanzen sind:

1. Progesteron
2. Östradiol
3. PROLACTIN
4. STH (Somatotropes Hormon)
5. ACTH bzw. Kortikoide

Die Bedeutung von Progesteron und Östradiol als mammogene Substanzen wurde oben schon ausgeführt.

Auch die Hormone der Nebennierenrinde, die vor allem für das Wachstum der Milchdrüse vor der Pubertät Bedeutung haben, zählen zu den mammogenen Substanzen. 1958 gelang LYONS und seinen Mitarbeitern der Nachweis, daß auch nach der Pubertät Kortikoide in geringer Dosierung notwendig sind, um einen optimalen Milchdrüsenaufbau zu gewährleisten (COWIE und LYONS 1959).
Eine Reihe von Autoren schrieben dem Insulin (AHREN 1959 a.,b.; AHREN und ETIENNE 1958; AHREN und JACOBSOHN 1956 a.,b.; JACOBSOHN 1958; KUMARESAN und TURNER 1965, 1967; KOZIOROWSKA 1962) und dem Thyroxin (LYONS und CATCHPOLE 1933; MIXNER und TURNER 1942; SMITHCORS und LEONARD 1942; PETERSEN, KNODT und LUDWICK 1944; FLUX 1957; MOON 1962; BATES, MILLER und GARRISON 1962; KUMARESAN und TURNER 1965) mammogene Wirkungen zu.
Diese Hormone aber können ihre mammogene Wirkung wahrscheinlich nur über eine allgemeine Beeinflussung des Stoffwechsels entfalten.

Die Abbildung 1 (Schema nach LYONS et al., 1958) bietet einen recht guten Überblick, welche Hormone Einfluß auf Ausbildung und Funktion der Milchdrüse nehmen.

Schema der Hormonwirkungen in der Mammogenese und Laktogenese
Oben: Rudimentäre Milchdrüse des Neugeborenen.
Rechts: Präpuberale Milchdrüse.
Links: Laktierende Milchdrüse.
Unten: Schwangerschaftsmilchdrüse.

Abkürzungen: P = Prolactin; C = Corticoide;
E = Oestrogene; Proges. = Progesteron.

(Nach LYONS et al. 1958)

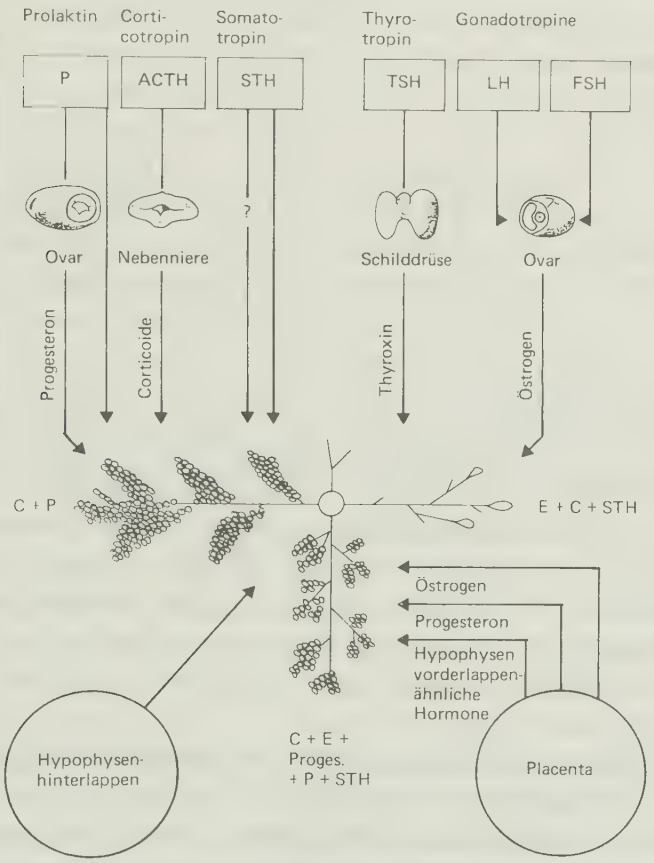

Abbildung 1

1.3. DIE WIRKUNG VON PROLACTIN IM MÄNNLICHEN ORGANISMUS

Mit der Frage, ob PROLACTIN auch im männlichen Organismus eine physiologische Aufgabe zu erfüllen hat, beschäftigte man sich in vielen Veröffentlichungen. Über eine Stimulierung des Prostata-Wachstums berichten 1963 TULLNER und GRAYHACK. Kurz darauf gelang es BENGMARK und HESSELSJO (1963, 1964) das Wachstum der Samenblasen in der Ratte mittels PROLACTIN-Injektionen anzuregen. PROLACTIN-Injektionen ließen auch ein beschleunigtes Wachstum der Präputialdrüsen erkennen (RENNELS, ANIGSTEIN D.M. und ANIGSTEIN L. 1961), so daß ein physiologischer Einfluß des PROLACTINS auf die Entwicklung der akzessorischen Geschlechtsdrüsen im männlichen Organismus möglich erscheint. Auch eine Beobachtung von HARAN-GHERA (1966), die bei der Verpflanzung eines Hypophysentumors, der in weiblichen Mäusen starkes Milchdrüsenwachstum auslöste, auf männliche Tiere desselben Stammes feststellte, daß an den Milchdrüsen keine Veränderungen auftraten, sich aber mächtige Samenblasen entwickelt hatten, sieht diese Möglichkeit vor.

Durch diese Versuchsergebnisse konnten die bestehenden Zweifel an einer physiologischen Rolle des PROLACTINS im männlichen Organismus nicht ausgeräumt werden, da in den Versuchen eine Stimulation des Wachstums der akzessorischen Geschlechtsdrüsen nur möglich war, wenn sehr hohe Prolactindosen verabreicht wurden.

Nicht nur die erforderlichen hohen Dosierungen sprechen gegen die Annahme einer physiologischen Rolle von PROLACTIN im männlichen Organismus, sondern vor allem die Tatsache, die bei der Untersuchung vieler Säuger aufgedeckt wurde, daß in den Hypophysenvorderlappen der untersuchten Männchen weitaus weniger

PROLACTIN zu finden ist als bei den entsprechenden Weibchen (MEITES und TURNER 1950; MEITES und NICOLL 1966).
An dieser Stelle sind auch die Befunde einer ungarischen Forschergruppe (KURCZ et al., 1967) zu nennen. Diese Forschergruppe hat den PROLACTIN-Gehalt der Adenohypophysen männlicher Ratten nach der Taubenkropf-Mikro-Methode von GROSVENOR und TURNER, 1958 (modifiziert von KURCZ, 1965) bestimmt. In der Tat war der Gehalt an PROLACTIN bei diesen Tieren viel niedriger als bei weiblichen Kontrollen.

1.4. DER NEUROENDOKRINE REGELKREIS DES PROLACTINS

Zwischen Östrogenen und den die Prolactinsekretion regulierenden hypothalamischen Zentren existiert bei Ratten und Mäusen ein positiver Rückkoppelungs-Mechanismus.

Die hypophysären Hormone LH und FSH werden durch sogenannte Releaserfaktoren des Hypothalamus gesteuert (FLERKO und SZENTAGOTHAI 1957; McCANN und FRIEDMANN 1960; ROTHCHILD und DICKEY 1960; SAWYER, HAHN, HILLARD, RADFORD und KANEMATSU 1963; KOBAYASHI, KOBAYASHI, KIGAWA, MIZUNO und AMENOMORI 1963; MITTLER und MEITES 1964; MINAGUCHI und MEITES 1967).
Im Gegensatz dazu unterliegt die PROLACTIN-Sekretion einem Hemmfaktor, dem sogenannten "prolactin-inhibiting-factor (PIF)".
Es darf in diesem Zusammenhang nicht unerwähnt bleiben, daß es Arbeitsgruppen gibt, die einen PROLACTIN-freisetzenden Faktor postulieren. Der im Hypothalamus gebildete Hemmfaktor ist vermutlich ein Neurosekret (McCANN und FRIEDMANN 1960; NICOLL und MEITES 1962; SAWYER, HAHN, HILLARD, RADFORD und KANEMATSU 1963; WOLTHUIS 1963 a.; MEITES 1963; KANEMATSU,HILLARD und SAWYER 1963; KOBAYASHI, KOBAYASHI, KIGAWA,MIZUNO und

AMENOMORI 1963; BEN-DAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; RAMIREZ und McCANN 1962; GROSVENOR, McCANN und NALLAR 1965; NIKITOVITCH-WINER 1965; BOWERS 1965; MISHKINSKY, LAJTOS und SULMANN 1966; ROBBOY und KAHN 1966; DE VOE, RAMIREZ und McCANN 1966; KUROSHIMA, ARIMURA, BOWERS und SCHALLY 1966; CHOWERS und McCANN 1967; SAR und MEITES 1967; GROSVENOR, MENA, DHARIVAL und McCANN 1968; ARIMURA, SAITO, MÜLLER, BOWERS, SAWANO und SCHALLY 1967; DHARIVAL, GROSVENOR, RODRIGUES und McCANN 1968; SAR und MEITES 1968).

Bei der Untersuchung zahlreicher Substanzen bezüglich ihrer Wirkung auf den PIF stellte sich heraus, daß vor allem das ovarielle Östradiol den PIF im Hypothalamus hemmt und damit die PROLACTIN-Sekretion des Hypophysenvorderlappens stimuliert, so daß sich über den PIF eine positive feed-back-Beziehung zwischen Östradiol und PROLACTIN ergibt (MEITES und TURNER 1942; EVERETT 1956, 1964; KANEMATSU und SAWYER 1963; WOLTHUIS und De JONGH 1963; RATNER, TALWALKER und MEITES 1963; WOLTHUIS 1963 c.; BEN-DAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; RATNER und MEITES 1964; TALWALKER, MEITES und MIZUNO 1964; RAMIREZ und McCANN 1964; NICOLL und MEITES 1962, 1964; MEITES und NICOLL 1966; TUCKER, PAAPE und SINHA 1967; CHOWERS und McCANN 1967; SAR und MEITES 1967; MINAGUCHI, CLEMENS und MEITES 1968).

Durch in-vitro-Versuche konnte eine direkte Wirkung des Östradiols auf die Hypophyse ohne Zwischenschaltung des Hypothalamus (MEITES und NICOLL 1966; KANEMATSU und SAWYER 1963) festgestellt werden.

Die durch eine Reihe von Experimenten gesicherte feed-back-Beziehung zwischen Progesteron und PROLACTIN (ROTCHILD und

DICKEY 1960; WOLTHUIS 1963; WOLTHUIS und De JONGH 1963; SAR und MEITES 1968) kommt unter physiol. Bedingungen nicht zum Tragen, da das Progesteron noch eine gegensätzliche Wirkung hat: es hebt gleichzeitig die stimulierende Wirkung des Östradiols auf die PROLACTIN-Ausschüttung auf und macht darüber hinaus die Milchdrüse während der Gravidität gegenüber PROLACTIN refraktär (MEITES und SGOURIS 1953; MEITES 1954; STEINBECK 1969). Erst durch Abfall des Progesteronspiegels bei der Geburt kommt es zu einer gesteigerten PROLACTIN-Sekretion und zur Auslösung der Laktation.

In positiver feed-back-Beziehung zum PROLACTIN stehen neben Testosteron (WOLTHUIS 1963; AHREN und ETIENNE 1959; CHOWERS und McCANN 1967; SAR und MEITES 1968) die Nebennierenrinden-Hormone (BEN-DAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; SULMAN et al. 1963, 1964; SAR und MEITES 1968).

Darüber hinaus sind auch noch exogene Reize von Bedeutung, die über eine Verminderung des PIF im Hypothalamus eine PROLACTIN-Ausschüttung bewirken.

Hier sind besonders zu nennen:

- der Saugreiz (RATNER und MEITES 1964; GROSVENOR, MENA und SCHAEFGEN 1967; TUCKER, PAAPE und SINHA 1967) und
- die Cervix-Reizung durch den Coitus (KUROSHIMA et al. 1966).

Besonders interessant ist die auf Grund mehrerer Befunde getroffene Feststellung, daß die Differenzierung des PIF-Zentrums androgenabhängig ist.

Die dazu von KUMARESAN und TURNER (1966) durchgeführten Versuche ergaben, daß Rattenweibchen, die in ihrer Foetalperiode Androgenen

ausgesetzt waren - durch Behandlung gravider Mütter mit einem Androgen - nach entsprechender Stimulierung ein stark reduziertes Milchdrüsenwachstum zeigen. Umgekehrt ist das Wachstum der Milchdrüsen männlicher Ratten, bei denen in der Foetalperiode die Androgenwirkung ausgeschaltet wurde - durch Behandlung der graviden Mütter mit einem Antiandrogen - sehr viel ausgeprägter als das der männlichen Kontrollen (NEUMANN und ELGER 1967).

Die aus diesen beiden Resultaten abgeleitete Hypothese, daß bei männlichen Tieren infolge der Androgenwirkung primär weniger Milchdrüsengewebe angelegt wird, so daß dann einfach weniger Substrat vorhanden ist, das nach entsprechender Stimulierung im Erwachsenenalter mit Wachstum reagieren kann, konnte nicht bestätigt werden. Vielmehr mußte die Hypothese auf Grund der Befunde der Arbeitsgruppe RIESER, SCHULZ und NEUMANN (1970) verworfen werden.

Bei neugeborenen Ratten bestehen zwischen männlichen und weiblichen oder feminisierten männlichen bzw. virilisierten weiblichen Tieren morphologisch keine quantitativen Unterschiede hinsichtlich der Drüsengewebsanlagen. Dieses Bild zeigte sich auch noch bei 30 Tage alten, d.h. kurz vor der Pubertät stehenden Tieren.

Die Arbeitsgruppe NEUMANN, ELGER und STEINBECK stellte 1971 die Hypothese auf, daß die festgestellten geschlechtsspezifischen Unterschiede in der Entwicklung des Milchdrüsengewebes nur dadurch zustande kommen, daß der positive "feed-back"-Mechanismus zwischen Östrogenen und PROLACTIN bei männlichen und weiblichen Ratten unterschiedlich arbeitet (Abb. 2).

Es seien hier NEUMANN, ELGER und STEINBECK (1971) zitiert:

> "Wir meinen, es könnte so sein, daß der 'prolactin-inhibiting-factor' (PIF) bei weiblichen Individuen durch Östrogene stärker gehemmt wird als bei männlichen, daß in Konsequenz davon bei gleichen Östrogenkonzentrationen bei weiblichen Tieren mehr PROLACTIN ausgeschüttet wird als bei männlichen mit dem Resultat eines stärkeren Milchdrüsenwachstums."

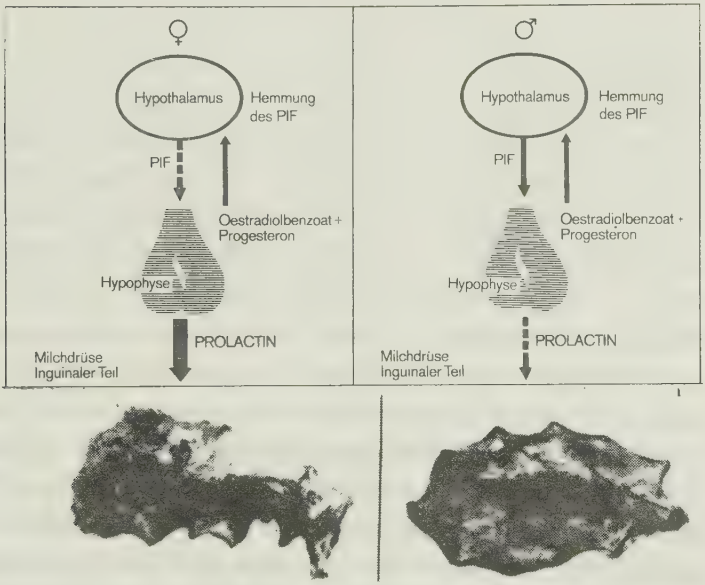

Abbildung 2 Hypothese: Schema der Regulation des positiven "feed-back"-Mechanismus zwischen Sexualhormon und Prolactin bei weiblichen und männlichen Individuen.
(aus: NEUMANN, ELGER und STEINBECK: Die Bedeutung der Androgene für die Prägung des Gehirns", 1971)

An dieser Stelle sei auch noch einmal an die Arbeiten von KURCZ und Mitarbeitern (KURCZ et al., 1967) erinnert. Die Befunde dieser ungarischen Forschergruppe unterstützen die obengenannte Hypothese. Der Gehalt an PROLACTIN war in jüngeren androgenisierten weiblichen Ratten viel niedriger als bei normalen weiblichen Kontrollen.

Erwähnt sollte auch der im Jahre 1970 von VON HASSELBACH erbrachte Beweis, daß die fetalen und neonatalen Androgene einen prägenden Einfluß auf das hypothalamische PIF-Zentrum besitzen. Die Programmierung des hypothalamischen PIF-Zentrums zum männlichen oder weiblichen Funktionstyp ist abhängig von der Anwesenheit oder Abwesenheit der Androgene während der Differenzierungsphase. BERGER konnte 1971 zeigen, daß diese androgenabhängige Differenzierung des PIF-Zentrums in der letzten Schwangerschaftswoche erfolgt. Bis auf den eben genannten Zeitfaktor steht dies im Einklang mit dem durch zahlreiche Untersuchungen nachgewiesenen Einfluß der Androgene auf die Differenzierungsvorgänge der hypothalamischen Zentren für die Steuerung der Sexualfunktion und des sexuellen Triebverhaltens (EVERETT, SAWYER und MARKEE 1949; BARRACLOUGH und LEATHEM 1954; BARRACLOUGH 1961; BARRACLOUGH und GORSKI 1961, 1962; HARRIS 1963, 1964; DÖRNER und DÖCKE 1964; SWANSON und VAN DER WERFF TEN BOSCH 1964; GORSKI und WAGNER 1965; KINCL et al. 1965; NEUMANN und ELGER 1965; NEUMANN, ELGER und VON BERSWORDT-WALLRABE 1967; NEUMANN, HAHN und KRAMER 1967; DANTCHAKOFF 1938 a., b.; WILSON und YOUNG 1941; PHÖNIX et al. 1959; HARRIS und LEVINE 1962; GORSKI und BARRACLOUGH 1963).

1.5. PROBLEMSTELLUNG DES EXPERIMENTS

Den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit bildet die von NEUMANN, ELGER und STEINBECK (1971) aufgestellte Hypothese (Abb. 2).

Ziel des ersten Versuches war es, einen klärenden Beitrag zu der aufgeworfenen Frage zu leisten, ob die unterschiedliche Drüsengewebsentwicklung bei männlichen und weiblichen Ratten dadurch zustande kommt, daß der PIF bei weiblichen Individuen durch Östrogene stärker gehemmt wird als bei männlichen, daß also eine Sexualdifferenzierung im Hypothalamus, die die Arbeitsweise des positiven "feed-back"-Mechanismus prägt, dafür verantwortlich ist, oder ob eine Sexualdifferenzierung der Hypophyse den genannten Unterschied bewirkt.

Nachdem sich aus dem ersten Versuch, deren Ergebnisse bereits in Form einer Diplomarbeit (BEIER 1973) vorgelegt wurden *), ein Hinweis darauf ergeben hatte, daß eine geschlechtsspezifische Differenzierung der Hypophyse möglicherweise mitverantwortlich ist für die zu beobachtende geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsengewebsentwicklung, ergänzende Prolactinbestimmungen im Serum jedoch keine signifikanten Unterschiede ergaben, wurde daher in einem weiteren Versuch geprüft, ob die zu beobachtende geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsengewebsentwicklung nach Induktion einer Pseudogravidität allein dem direkten Einfluß der Hypophyse, also einer geschlechtsspezifischen Prolactin-Sekretion der Hypophyse ohne steuernden PIF-Einfluß, unterliegt, oder ob nicht das Milchdrüsengewebe per se Geschlechtsunterschiede auf der Basis der Hormon-Rezeptoren für PROLACTIN aufweist.

---

*) Die wichtigsten Ergebnisse werden am Anfang des Kapitels - III. ERGEBNISSE - aufgezeigt.

Diese zuletzt genannte Möglichkeit ist denkbar, wenn man annimmt, daß in der Reifungsphase unter Einflußnahme von Sexualhormonen die Bildung spezifischer geschlechtsunterschiedlicher Hormon-Rezeptoren, speziell für PROLACTIN, stattfindet.
Der Begriff Reifungsphase darf dabei nicht mit der kritischen Differenzierungsphase der zuständigen Hypothalamusregionen verwechselt werden, da sonst schon neonatale Unterschiede auftreten müßten.

II. MATERIAL UND METHODEN

2.1. TIERMATERIAL UND BEHANDLUNG

Die Untersuchung wurde an männlichen und weiblichen Sprague-Dawley-Ratten durchgeführt.

Die Tiere aller Versuchsgruppen (I - VI) wurden bei einem Gewicht von 80 - 100 g gonadektomiert. Eine Woche später wurden sie hypophysektomiert (EVERETT 1954). Von diesem Zeitpunkt an wurden die Tiere aller Versuchsgruppen in einem Klimaraum, in dem gewöhnlich eine Temperatur zwischen 23°C und 25°C herrschte, untergebracht.

Das Licht wurde durch einen Zeitschalter kontrolliert; auf 14 Stunden Helligkeit folgten 10 Stunden Dunkelheit. Fortan erhielten alle Tiere zusätzlich zu ihrer Nahrung täglich besonders proteinreiches Futter und 5%ige-Traubenzuckerlösung.

Den hypophysektomierten Ratten wurden dann Hypophysen von 30 bis 40 g schweren Ratten unter die Nierenkapseln transplantiert.

Die Hypophysen-Spender-Ratten wurden zu diesem Zweck dekapitiert, um eine mögliche Schädigung der Hypophysen durch Einfluß von Narkosemittel zu verhindern. Die entnommenen Hypophysen wurden sofort in physiologische Kochsalzlösung überführt.

Den hypophysektomierten männlichen Versuchstieren wurden dann nacheinander die linke und die rechte Niere freigelegt und jeweils zwei Hypophysen männlicher (Gruppen I und II) und weiblicher (Gruppe III) Spender-Ratten in eine vorbereitete 'Tasche' der Nierenkapsel transplantiert. Den hypophysektomierten weiblichen Versuchstieren wurden entsprechend Hypophysen weiblicher Spender-

Ratten (Gruppen IV und V) und männlicher Spender-Ratten (Gruppe VI) transplantiert (EVERETT 1954; EVERETT 1956).

Nach einer Woche erzeugten wir durch Injektion von 10 µg Östradiol und 30 mg Progesteron täglich über 22 Tage in das subcutane Gewebe des Rückens eine Pseudogravidität.

Östradiol wurde in Sesamöl und Progesteron in einem Benzylbenzoat-Rizinusöl-Gemisch gelöst.

Die Versuchstiere der Kontrollgruppen II und V bekamen täglich über 22 Tage 0,2 ml eines Benzylbenzoat-Rizinusöl-Gemisches injiziert.

2.1.1. EINTEILUNG DER GRUPPEN

GRUPPENEINTEILUNG			
Gruppe	Geschlecht	Anzahl	Behandlung
I	♂	18	GE HE HT♂ OE+P
II	♂	19	GE HE HT♂ ÖI
III	♂	15	GE HE HT♀ OE+P
IV	♀	15	GE HE HT♀ OE+P
V	♀	20	GE HE HT♀ ÖI
VI	♀	19	GE HE HT♂ OE+P

GE = Gonadektomie
HE = Hypophysektomie
HT♂ = ♂-Hypophysentransplantat
HT♀ = ♀-Hypophysentransplantat
OE+P = 10 ug Östradiol + 30 mg Progesteron 22 Tage lang s.c.
ÖL = ÖI-Kontrolle

Tabelle 1

Am Tag nach der letzten Östradiol-Progesteron-Injektion wurden die Tiere durch Dekapitation getötet und sofort präpariert. Es bot sich für die Darstellung der Milchdrüsenentwicklung eine vierfache Auswertung an:

- Milchdrüsengewicht
- Whole Mount Preparation (Ausschnittpräparate)
- Milchdrüsen-Histologie
- DNA-Bestimmung

Nach der Tötung der Tiere wurde auch stets überprüft, ob die durchgeführten Operationen wie Gonadektomie, Hypophysektomie und Hypophysentransplantation erfolgreich waren.
Für die Gonadektomie konnte dies makroskopisch festgestellt werden; für die Hypophysentransplantation konnte die Einheilung der Transplantate ausschließlich auf Grund histologischer Präparate überprüft werden. Für die Hypophysektomie bot sich die Erfassung der Nebennieren-Gewichte an (siehe 2.7. Nebennieren-Gewicht).

Die Abbildungen 3 a. - 3 h. zeigen Hypophysen nach Transplantation unter die Nierenkapsel. Die Übersichtsbilder (Abb. 3 a.,c.,e.) lassen klar erkennen, daß die Transplantate gut eingeheilt sind.

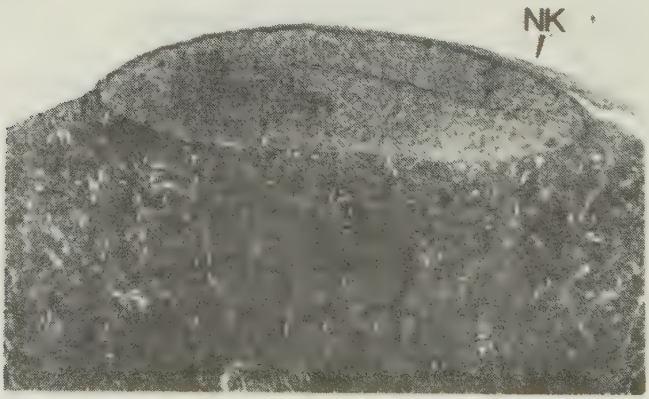

Abb. 3 a.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.: 40 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

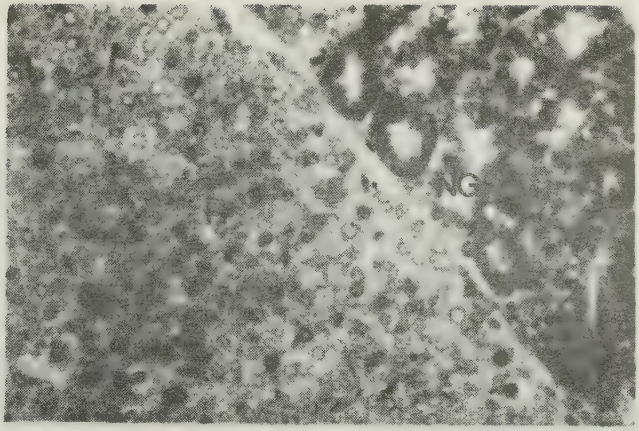

Abb. 3 b.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.: 400 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

Gut zu erkennen sind in den Abb. 3 a. - 3 g. die bindegewebige Nierenkapsel (NK) und das Nierengewebe (NG). Die Abb. 3 h. zeigt einen Ausschnitt reinen Hypophysengewebes (H).

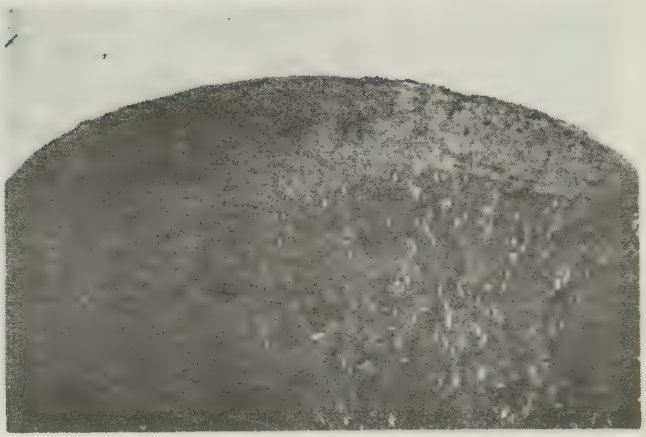

Abb. 3 c.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.: 40 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

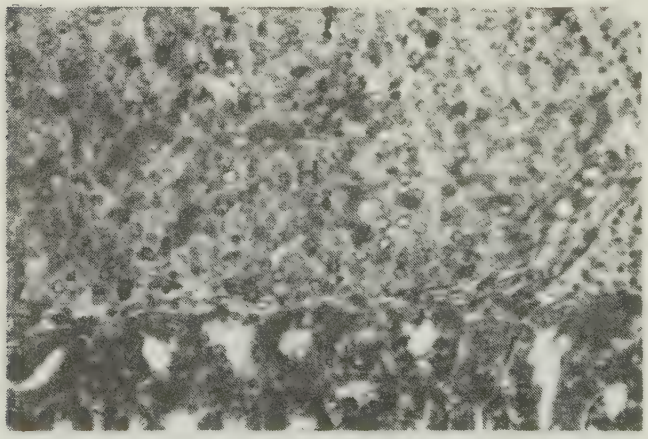

Abb. 3 d.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.: 400 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

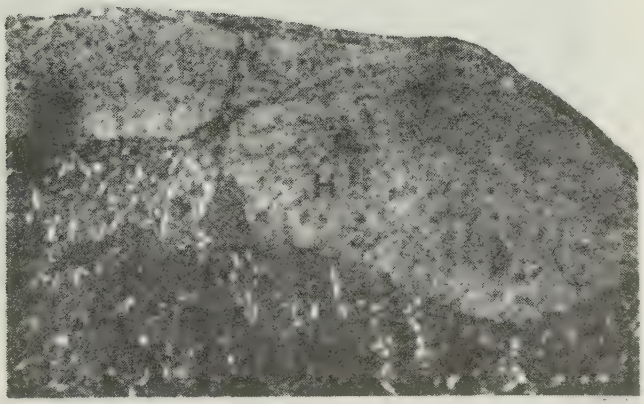

Abb. 3 e.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.: 64 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

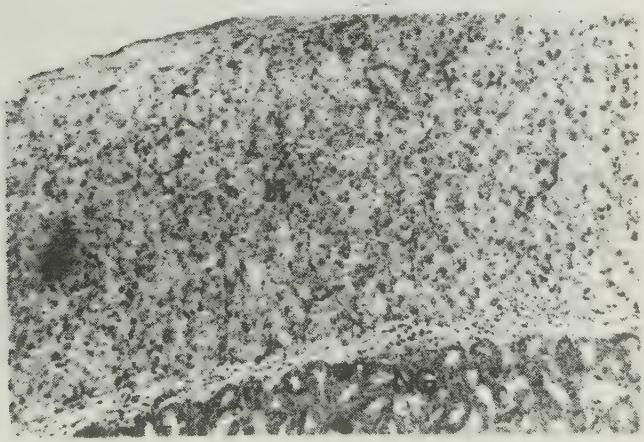

Abb. 3 f.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.: 160 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

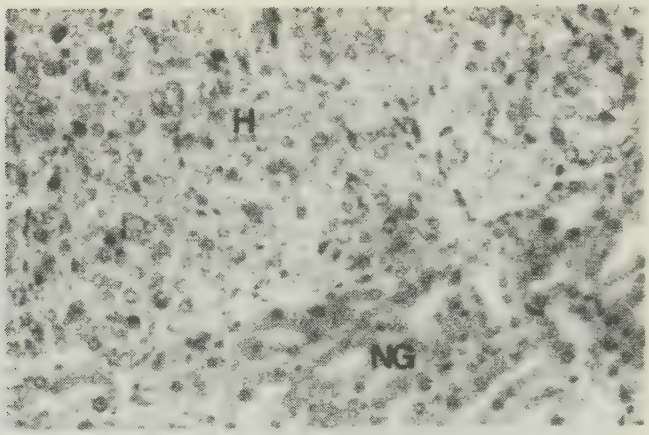

Abb. 3 g.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.: 400 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

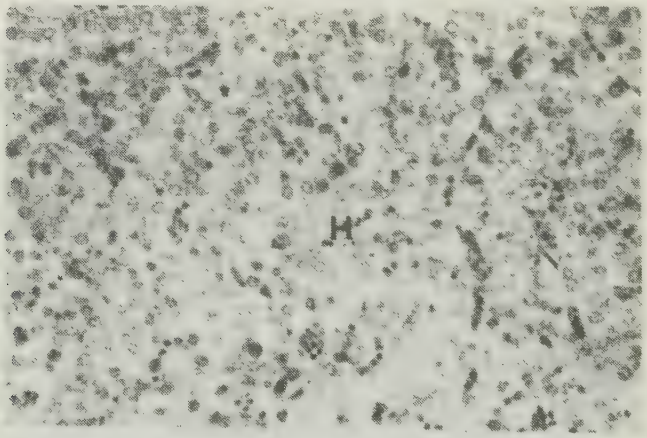

Abb. 3 h.: Histologisches Bild eines Hypophysentransplantats.
Vergr.:400 x
Färbemethode: Trichrom-Färbung nach MASSON.

2.2. MILCHDRÜSENGEWICHT

(MUNFORD 1964)

Die abdominal-inguinalen Drüsen rechts werden vom Tierkörper abpräpariert, von Fett- und Bindegewebe befreit und gewogen. Da das in den Drüsen enthaltene Sekret mitgewogen wird, bedeutet die Wägung mehr ein Maß für die Funktion der Milchdrüsen als für deren Entwicklungsgrad.

2.3. WHOLE MOUNT PREPARATION (AUSSCHNITTPRÄPARATE)

Die grob-morphologische Methode der Whole Mount Preparation (HADFIELD und YOUNG 1950; LYONS und JOHNSON 1952) erlaubt nur eine makroskopische Beurteilung der Milchdrüsenentwicklung. Sie ist auch nur anwendbar bei Spezies mit flachen Milchdrüsen,z.B. bei der Ratte, Maus oder dem Kaninchen.
Die Ausdehnung des Gangsystems, sowie die Anzahl von Knospen und Alveolen können recht gut bestimmt werden. Da die Aussagekraft der Methode um so größer wird, je geringer das Flächen- und Tiefenwachstum der Milchdrüse stimuliert wird, eine Kombinationsbehandlung mit Östradiol und Progesteron aber ein stärkeres Flächen- und Tiefenwachstum stimuliert, wurde aus diesem Grunde nicht der gesamte präparierte und fixierte Drüsenkörper photographiert und beurteilt, sondern periphere Ausschnittvergrößerungen angefertigt.

Technik:

Ein genügend großer Hautbezirk der abdominal-inguinalen Drüsen links wird mit dem darunter liegenden Bindegewebe vom Tierkörper abgetrennt und 24 Stunden im BOUIN´schen Gemisch fixiert. Es schließt sich eine mehrtägige Spülung in 50%igem Alkohol an, der dann die Färbung mit Alaun-Karmesin folgt. Der überflüssige

Farbstoff wird durch mehrmaliges Spülen mit 70%igem Alkohol entfernt. Abschließend wird das Präparat in einer aufsteigenden Alkoholreihe dehydriert und in Xylol eingelegt. Zur Beurteilung der Struktur wurden periphere Ausschnittvergrößerungen angefertigt. Hierzu wurde der betreffende Drüsenkörperabschnitt von der Haut abgezogen und photografiert.

2.4. MILCHDRÜSEN-HISTOLOGIE

Die Milchdrüsen-Histologie stellt eine Ergänzung zu den Ausschnittpräparaten der Whole Mount Preparation dar und gibt Auskunft über mögliche strukturelle Unterschiede und Veränderungen innerhalb der Gänge und Alveolen.

Technik:

Der pektoralen Drüse links wurde ein etwa 1 cm^2 großer Bezirk entnommen und im BOUIN'schen Gemisch fixiert. Das fixierte Material wird in Alkohol gespült. Es schließt sich die Färbung des Präparates mit Hämatoxilin-Eosin an. Das gefärbte Präparat wurde dann in Paraffin (56° C) eingebettet und in Serienschnitten für die mikroskopische Untersuchung aufgearbeitet.

2.5. DNA-BESTIMMUNG

Die DNA-Bestimmung der Milchdrüse stellt eine objektive Methode dar. Sie erfolgt zusätzlich zur Whole Mount Preparation und Milchdrüsen-Histologie und dient gewissermaßen als Kontrolle zur "subjektiven" Methode der Whole Mount Preparation. Die Untersuchungen von KIRKHAM und TURNER (1953), sowie von MIRSKY und RIS (1949), bilden die Grundlage der DNA-Bestimmung. Danach ist der DNA-Gehalt eines Organs direkt proportional seiner Zellzahl.

HARKNESS und HARKNESS stellten 1956 fest, daß sich der Kollagengehalt einer im Aufbau befindlichen Drüse kaum verändert. Ein Anstieg des DNA-Gehaltes während der Aufbauphase zeigt demnach immer eine Parenchymproliferation an.
Der totale DNA-Gehalt der Mamma ist ein Parameter für den Entwicklungszustand, die Konzentration dagegen ein Maß für die Wachstumsrate (GREENBAUM und GREENWOOD 1954; GRIFFITH und TURNER 1957; KIRKHAM und TURNER 1954; MUNFORD 1963; TURNER, WILLIAMS und HINDERY 1963; WILLIAMS und TURNER 1961).

Technik:

(WEBB und LEVY 1955; MOON, GRIFFITH und TURNER 1959)
Die abdominal-inguinalen Drüsen rechts werden sofort nach der Abtrennung vom Tierkörper und anschließender Wägung in Trockeneis gelegt und für eine Woche bei -18° C tiefgefroren.
Es folgt die Fett- und Wasserextraktion durch je 4 Stunden langes Kochen in 96%igem Alkohol/Benzol und Äther. Das verbleibende Trockenmaterial wird in einer Mühle pulverisiert.
Anschließend wird die DNA-Bestimmung der Milchdrüsen der einzelnen Versuchstiere nach der Methode von WEBB und LEVY durchgeführt.

A. Hydrolyse:

1. Das zu untersuchende Material wird in 3 ml 5%iger Trichloressigsäure (TCA) suspendiert;
2. diese Suspension wird 30 Minuten im kochenden Wasserbad hydrolysiert, dazu werden Schliffzentrifugengläser benutzt, auf die Stopfen (NS 14,5) gesetzt werden, um ein Verdunsten der TCA zu vermeiden;
3. nach der Hydrolyse werden die Zentrifugengläser gekühlt (nur mit Wasser);
4. werden zu dem Ausgangsvolumen von 3 ml zusätzlich 3 ml TCA gegeben;
5. der Inhalt wird gemisch und zentrifugiert.

B. Standard:

Eine Stammlösung standardisierter DNA (Kälber Thymus) wird ebenfalls 30 Minuten hydrolysiert (100 µg in 5 ml). Die Stammlösung muß täglich frisch angesetzt werden!

C. Kolorimetrische Bestimmung:

1. 1 x 2 ml Anteile des hydrolysierten Materials werden in je ein Zentrifugenglas pipettiert;
2. dazu kommt in jede Probe 3 ml TCA und anschließend 0,2 ml p-Nitrophenylhydrazinreagenz*),
3. ein Reagenzienleerwert wird auf ähnliche Weise hergestellt, nur daß 5 ml 5%iger TCA verwendet werden und 0,2 ml p-Nitrophenylhydrazin;
4. die gesamten Proben werden dann 20 Minuten in einem kochenden Wasserbad erhitzt (siehe A, Nr. 3);
5. nach der Abkühlung werden 10 ml n-butylacetat zu jeder Probe gegeben;
6. die Zentrifugengläser werden mit NS 14,5 Schliffstopfen verschlossen und mit Tesa-Industrieband verklebt und 20 Minuten geschüttelt (Schüttelwagen);
7. die Stopfen werden wieder entfernt, und zur besseren Trennung der organischen Schicht von der wässrigen Schicht werden die Proben zentrifugiert;
8. nach der Zentrifugation wird die größere organische Phase abgesaugt und verworfen;
9. 3 ml der wässrigen Phase jeder Probe werden mit Hilfe einer Vollpipette, die man unter die Reste der organischen Schicht taucht, in ein Schliffzentrifugenröhrchen überführt;
10. 2 ml 1n NaOH werden zur Entwicklung der Farbe hinzugetan.

---

*) Herstellung der 0,5 %igen p-Nitrophenylhydrazinlösung:
50 mg ad 10 ml absoluter Alkohol

Die gefärbte Lösung wird dann zum Schluß in eine Küvette überführt und gemessen (Eppendorf-Spektrometer Filter 546).

Formel zur Berechnung:

$$\mu g\ DNA/ML = \frac{Conc.d.Standards \times (Ext.d.Probe-LW) \times TG\ der\ ML}{(Ext.d.Stand.-LW) \times eingesetzte\ Gewebemenge}$$

ML = Milchdrüsenleiste

LW = Leerwert

2.6. RADIOIMMUNOLOGISCHE SERUM-PROLACTIN-BESTIMMUNG

Das Prinzip des Radioimmunoassay (RIA), das auf der Möglichkeit basiert, daß Antigen-Antikörper-Komplexe in vitro präzipitierbar sind, erlaubt es, die im peripheren Blut der Versuchstiere kreisende Menge an Ratten-PROLACTIN zu messen.

Um ein RIA durchzuführen, müssen einige Grundvoraussetzungen geschaffen sein:

1. Das zu bestimmende Hormon (das Antigen), im speziellen Fall PROLACTIN, muß in hochgereinigter Form zur radioaktiven Markierung mit ^{131}J verfügbar sein.
2. Ein gegen Ratten-PROLACTIN gerichteter spezifischer Antikörper muß vorliegen, der mit dem Hormon eine reversible Bindung eingeht. Den Antikörper gewinnt man durch Immunisierung von Kaninchen mit einem hochgereinigten Hormonpräparat.

Gibt man diesem System von ^{131}J-markiertem Hormon (Antigen) und spezifischen Antikörper das zu prüfende Serum in bestimmter Menge zu, so wird ein Teil des markierten Hormons verdrängt werden durch das im Serum befindliche unmarkierte PROLACTIN. Das resultierende Präzipitat wird nun entsprechend weniger Radioaktivität aufweisen. Die Abnahme der Radioaktivität ist in einem bestimmten Bereich proportional der zugesetzten Menge von unmarkiertem, zu bestimmenden, PROLACTIN.

Umgekehrt nimmt die nicht an den Antikörper gebundene ("freie") Aktivität ebenfalls proportional der Menge unmarkiertem PROLACTINs im zu testenden Serum zu.

Die angewandte "DOUBLE ANTIBODY METHOD" ermöglicht die Trennung des Tracer vom Antigen-Antikörper-Komplex durch Einsatz eines 2. Antikörpers gegen den 1. Antikörper.

Durch den Vergleich mit einer Standardkurve (Abb. 4), die mit

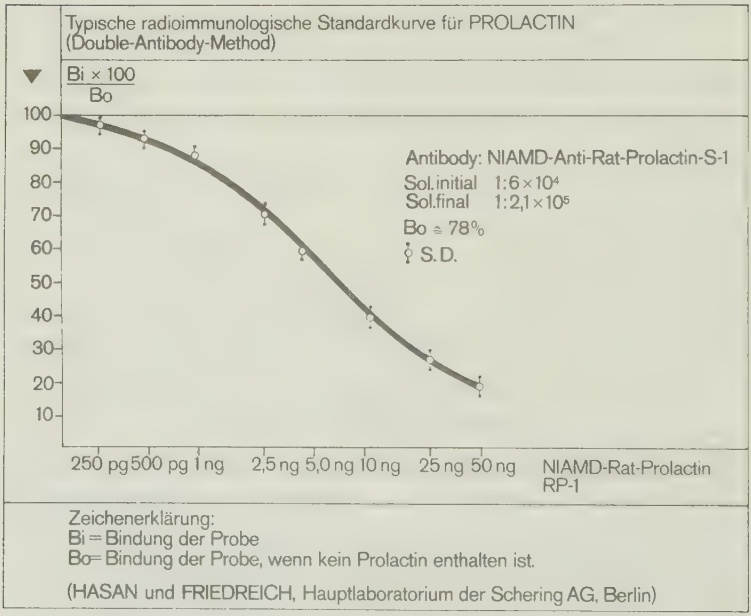

Abbildung 4

bekannten, eingewogenen Mengen unmarkierten PROLACTINs erhalten wird, kann die PROLACTIN-Konzentration in den einzelnen Serumproben ermittelt werden.

Technik:

Die bei der Dekapitation der Versuchstiere gesammelten Blutproben werden im Eisbad deponiert. Das Blut-Serum wird abzentrifugiert (10 min bei 1500 x g) und bei -30° C bis zum Zeitpunkt der PROLACTIN-Bestimmung eingefroren.

Durchführung des PROLACTIN RIA

1. 10 x 75 mm Teströhrchen werden im Eisbad deponiert.
2. Der im Kühlschrank langsam aufgetaute Standard NIAMD RP-1 [1] (1000 ng/100 µl) wird so in 1% HSA-PBS [2] verdünnt, daß sich der Standardkurvenbereich von 250 pg - 50 ng/400 µl erstreckt.
3. 100 µl bzw. 200 µl der zu untersuchenden Seren werden pipettiert. Um Aktivitätsverluste zu vermeiden, sollte das Serum kurz vor der Untersuchung nur einmal im Kühlschrank langsam aufgetaut werden. Während des Pipettierens die Seren im Eisbad deponieren.
4. Mit 1 % HSA PBS auf 400 µl total bringen.
5. 200 µl des NIAMD-Anti-Rat-Prolactin - S - 1 [3] 1:6.5 x 10^4 pipettieren.
6. Das jodierte Ratten-Prolactin (J^{131} NIAMD-Rat-Prolactin-J-1) [4] pipettieren.
   Der Tracer sollte so eingestellt sein, daß ca. 2 x 10^4 cpm in 100 µl 1 % HSA PBS enthalten sind.
7. Gut mischen.
8. 3 bis 5 Tage bei 4° C inkubieren.
9. Mit 100 µl Anti-Kaninchen-Gammaglobulin [5] versetzen.
10. Gut mischen.
11. Für 12 - 14 h im Kühlschrank inkubieren.

---

1) Vom National Institute of Arthritis and Metabolic Diseases (NIAMD) konnte beschafft werden:
   . NIAMD-Rat-Prolactin-J-1
   . NIAMD-Rat-Prolactin-RP-1
   . NIAMD-Anti-Rat-Prolactin-S-1
2) HSA-PBS = Human Serum Albumin - Phosphate Buffer Saline
3) 4)) siehe unter Punkt 1)
5) Anti-Rabbit Precipitating Serum donkey for RIA (von der Fa.WELLCOME)

12. Für 30 min bei ca. 2000 x g zentrifugieren.
13. Den Überstand in ein Becherglas decantieren.
14. Die Röhrchen zum Auslaufen senkrecht auf Fließpapier stellen.
15. Die Impulse des Präzipitats messen und sie in Relation zum Reference Präparat (NIAMD-Rat-Prolactin-RP-1) setzen.
16. Das Ergebnis wird als ng NIAMD-Rat-Prolactin-RP-1 pro ml Serum angegeben.

2.7. NEBENNIEREN-GEWICHT

Um schon bei der Tötung der Tiere einen gewissen Anhaltspunkt zu haben, ob bei den hypophysektomierten Tieren noch Reste der Hypophyse vorhanden sind, wurden die Nebennieren-Gewichte erfaßt.

Im Hypophysenvorderlappen wird u.a. ein adrenocorticotropes Hormon (ACTH) gebildet, das die Nebennieren-Hormonbildung steuert. Nach erfolgreicher Entfernung der Hypophyse (SMITH 1927) ist eine Atrophie der Nebennierenrinde zu verzeichnen. Dies drückt sich u.a. darin aus, daß das Gewicht der Nebenniere beträchtlich unter dem der nicht-hypophysektomierten Kontrollen liegt (SMITH 1930; CROOKE und GILMOUR 1938; SIMPSON, EVANS und LI 1943; SARASON 1943; DEANE und GREEP 1946).

Da alle Versuchsgruppen (I - VI) hypophysektomiert wurden, bedurfte es noch einer weiblichen und einer männlichen Kontrollgruppe, deren Tiere ausschließlich gonadektomiert wurden, um beurteilen zu können, ob die Nebennieren-Gewichte bei den hypophysektomierten Versuchstieren unter den Normalwerten liegen.
Weil diese beiden Kontrollgruppen einzig und allein diesem Zweck dienen, wurden sie nicht in die Gruppeneinteilung (Tab. 1) aufgenommen.

III. ERGEBNISSE

Es sei im folgenden eine Zusammenfassung der Ergebnisse des ersten Versuches (siehe Tabelle 2), die bis auf die radioimmunologische Prolactinbestimmung im Serum schon in Form einer Diplomarbeit (BEIER 1973) vorgelegt wurden, gegeben, bevor unter den Punkten 3.1. bis 3.6. die weiteren Untersuchungsbefunde aufgeführt werden.

GRUPPENEINTEILUNG					DNA-GEHALT D. BRUSTDR.		MILCHDR.-GEW.	RADIOIMMUNOLOGISCHE SERUM-PROLACTIN-BEST.
Gruppe	Geschlecht	Behandlung	Zahl der Tiere	KG (g) *	DFFT / Drüse (mg)	DNA / Drüse (µg)	mtl. Milchdrüsen-Gew. (g)	NIAMD-RP-1 Prolactin (ng/ml) $\bar{x} \pm$ S.E.M. **
I	♂	A GE HE HT OE+P	11	176 ± 4,25	503	583	522,09	198,90 ± 32,5
		B GE HE HT OE	5	197 ± 6,62				228,80 ± 37,4
II	♂	A GE HE HT Öl	18	173 ± 3,67				81,04 ± 5,2
		B	9	171 ± 6,09				
III	♀	A GE HE HT OE+P	17	184 ± 4,84	1186	1020	1251,82	234,00 ± 23,4
		B GE HE HT OE	10	173 ± 5,49				236,18 ± 27,9
IV	♀	A GE HE HT Öl	16	161 ± 2,83				74,42 ± 4,7
		B	8	156 ± 6,03				
V	♂	A GE OE+P	14	292 ± 10,7	1539	1663	1261,43	232,00 ± 22,3
		B GE OE	6	263 ± 9,63				230,70 ± 38,8
VI	♂	A GE Öl	15	313 ± 8,66				72,22 ± 6,7
		B	8	316 ± 13,5				
VII	♀	A GE OE+P	12	276 ± 7,11	2232	2641	2294,92	241,80 ± 21,1
		B GE OE	9	244 ± 4,81				183,00 ± 19,4
VIII	♀	A GE Öl	12	278 ± 9,25				68,20 ± 4,6
		B	6	281 ± 8,60				

GE = Gonadektomie
HE = Hypophysektomie
HT = Hypophysentransplantat
OE+P= 10 µg Östradiol + 30 mg Progesteron 22 Tage lang s.c.
OE = 10 µg Östradiol 22 Tage lang s.c.
Öl = Öl-Kontrolle
KG = Körpergewicht
DFFT = Dry fat free tissue

* Mittlerer Fehler berechnet nach der Formel

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum x^2}{n-1} \cdot \frac{1}{n}}$$

** $\bar{x} \pm$ S.E.M. ... S.E.M. = $\frac{s}{\sqrt{n}}$

s = Standardabweichung der Einzelwerte

Tabelle 2

Untersucht wurde an Ratten der positive Rückkoppelungs-Mechanismus zwischen Östrogenen und PROLACTIN. Ratten beiderlei Geschlechts wurden bei einem Gewicht von 80 - 100 g gonadektomiert.

Den Tieren der Versuchsgruppen (vgl. Tabelle 2), die eine Woche später hypophysektomiert wurden, transplantierte man dann je zwei Hypophysen von 30 bis 40 g schweren gleichgeschlechtlichen Spender-Ratten unter die Nierenkapseln. Anschließend erfolgte eine Stimulierung der hypophysären PROLACTIN-Sekretion durch eine Kombinationsbehandlung von Östradiol und Progesteron über 22 Tage.

Die Untersuchung hatte eindeutig ergeben, daß nicht nur zwischen der männlichen und weiblichen Versuchsgruppe der gonadektomierten Ratten, die 22 Tage lang mit entsprechenden Dosen Östradiol und Progesteron behandelt wurden (Gruppen V und VII, siehe Tabelle 2), merkliche Unterschiede in der Milchdrüsengewebsentwicklung auftreten. Auch bei den Versuchsgruppen, die gonadektomiert, hypophysektomiert und hypophystransplantiert (Hypophysen gleichgeschlechtlicher Tiere!) und anschließend einer Östradiol-/Progesteron-Behandlung zugeführt wurden, ist eine bei männlichen und weiblichen Ratten unterschiedlich starke Milchdrüsenstimulierung zu verzeichnen. Wie ein Vergleich der Gruppen I und III miteinander ergibt, wurde das Milchdrüsenwachstum der weiblichen Individuen (Gruppe III) durch diese Behandlung bedeutend stärker stimuliert.
Die Abbildung 5 stellt den DNA-Gehalt der Brustdrüsen und das Milchdrüsen-Gewicht in recht anschaulicher Weise graphisch dar.

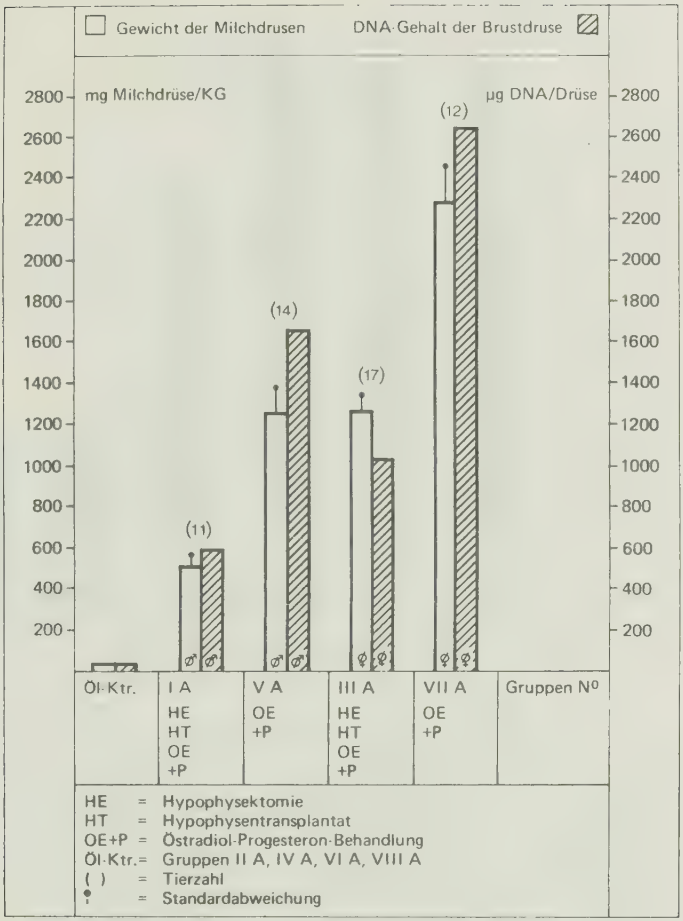
Gewicht der Milchdrusen
DNA-Gehalt der Brustdruse
mg Milchdrüse/KG
µg DNA/Drüse
2800
2600
2400
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
(11)
(14)
(17)
(12)
♂
♀
Öl-Ktr.
I A HE HT OE +P
V A OE +P
III A HE HT OE +P
VII A OE +P
Gruppen N⁰
HE = Hypophysektomie
HT = Hypophysentransplantat
OE+P = Östradiol-Progesteron-Behandlung
Öl-Ktr.= Gruppen II A, IV A, VI A, VIII A
( ) = Tierzahl
= Standardabweichung

Abbildung 5

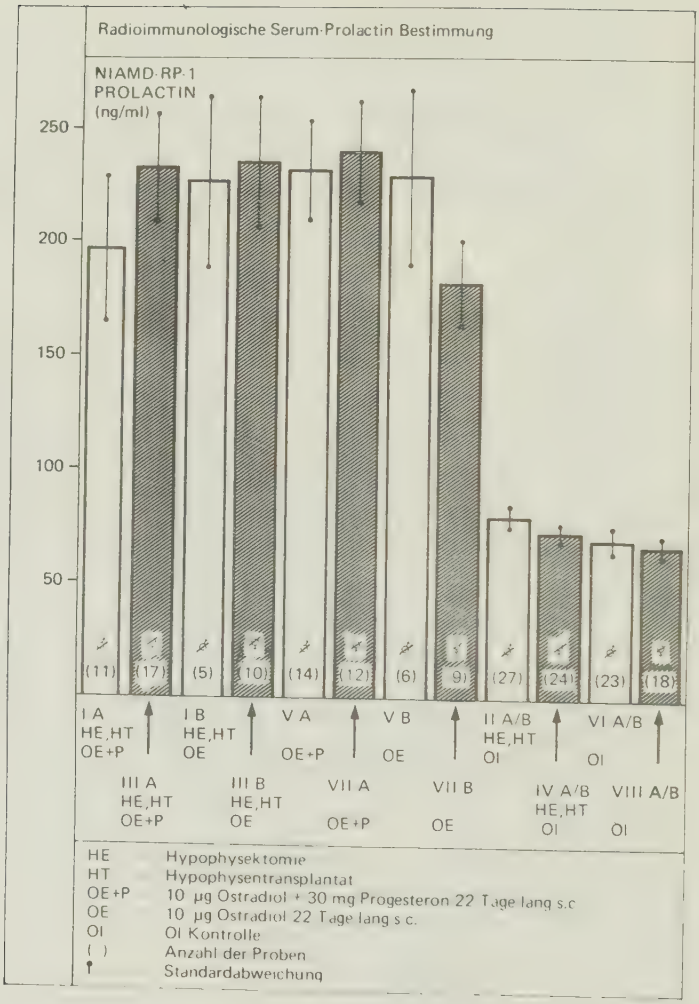
Radioimmunologische Serum-Prolactin Bestimmung
NIAMD-RP-1
PROLACTIN
(ng/ml)
250
200
150
100
50
♂ (11)
♀ (17)
♂ (5)
♀ (10)
♂ (14)
♀ (12)
♂ (6)
♀ (9)
♂ (27)
♀ (24)
♂ (23)
♀ (18)
I A HE,HT OE+P
I B HE,HT OE
V A OE+P
V B OE
II A/B HE,HT OI
VI A/B OI
III A HE,HT OE+P
III B HE,HT OE
VII A OE+P
VII B OE
IV A/B HE,HT OI
VIII A/B OI
HE Hypophysektomie
HT Hypophysentransplantat
OE+P 10 µg Ostradiol + 30 mg Progesteron 22 Tage lang s.c
OE 10 µg Ostradiol 22 Tage lang s.c.
OI OI Kontrolle
( ) Anzahl der Proben
Standardabweichung

Abbildung 6

Die erst später radioimmunologisch bestimmten Serum-Prolactin-Werte (siehe Tab. 2 und Abb. 6) wurden mittels einer drei-faktoriellen Varianzanalyse aufgearbeitet.
Die drei Faktoren sind:

- der Behandlungstyp (OE oder OE+P)
- das Geschlecht des Versuchstiers
- Lage der Hypophyse (HT = Hypophysentransplantat oder
  nHT = normale Lage in Verbindung mit dem Hypothalamus)

In den behandelten Gruppen I A/B, III A/B, V A/B und VII A/B hat ein Vergleich keine signifikanten Unterschiede im Serum-Prolactin-Spiegel (bei $P < 0.05$) nachweisen können

1. zwischen den Behandlungstypen,
2. zwischen dem Geschlecht der Versuchstiere und
3. zwischen der Lage der Hypophyse (HT oder nHT).

Ein Vergleich der Öl-Kontrollen mittels einer zwei-faktoriellen Varianzanalyse (Faktor 1 = Geschlecht; Faktor 2 = Lage der Hypophyse, HT oder nHT) hat weder einen signifikanten Unterschied zwischen den Geschlechtern ($P > 0.05$), noch zwischen der Lage der Hypophyse ($P > 0.05$) ergeben. Es zeigte sich auch, daß keine signifikante Wechselwirkung zwischen Geschlecht und Lage der Hypophyse ($P > 0.05$) besteht.

In dem Kapitel - 4.3. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE - wird auf die Bedeutung dieses zuletzt genannten wichtigen Befundes hingewiesen und sein Wert im Zusammenhang mit den folgenden Ergebnissen diskutiert und interpretiert werden.

3.1. WHOLE MOUNT PREPARATION (AUSSCHNITTPRÄPARATE)

Gruppe I: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Männchen mit ♂-Hypophysentransplantaten

Abb. 7

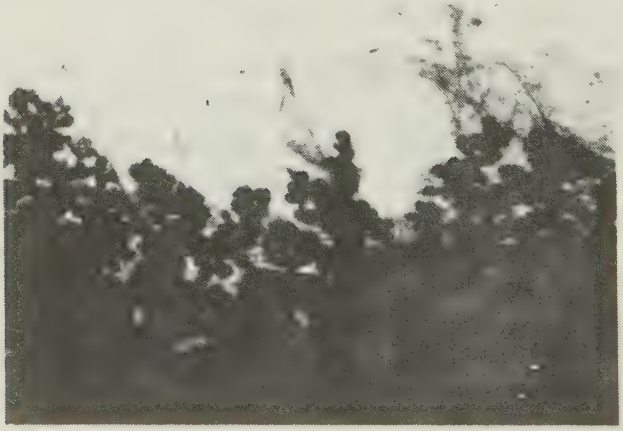

Abb. 8

Die Abbildungen 7 und 8 lassen eine Stimulierung der Milchdrüsen erkennen.

Es handelt sich bei den Abbildungen um 16-fach vergrößerte Ausschnitte der Milchdrüsen-Ganzdarstellungen. Auf Ganzdarstellungen wurde verzichtet, da sie keinen Aufschluß über strukturelle Feinheiten geben, sondern nur in bezug auf Ausdehnung und Flächenwachstum der Drüsenkörper in den Versuchsgruppen eine Aussage zulassen.

Die makroskopische Beurteilung der "Milchdrüsen-Präparate in toto" ließ schon bei der Präparation derselben Vergleiche zwischen den Versuchsgruppen zu.

Die Drüsen zeigen eine ausgeprägte Verzweigungsstruktur, die zur Peripherie hin nur mäßig schwächer wird. Weitlumige Gänge mit End- und Seitenknospen bestimmen das Bild. Acini und Alveolen sind vorhanden. Die Alveolen sind offensichtlich mit Sekret gefüllt. Die Randständigen sind zuweilen ballonförmig aufgetrieben. Verglichen mit Gruppe IV (mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Weibchen mit ♀-Hypophysentransplantaten) zeigten die Drüsenkörper eine weitaus geringere Ausdehnung.

Gruppe II: Männliche, gonad- und hypophysektomierte Ölkontrollen mit ♂-Hypophysentransplantaten

Das Bild der Drüsenkörper der männlichen, kastrierten, hypophysektomierten und hypophystransplantierten Öl-Kontroll-Gruppe wird geprägt durch eine lockere Struktur des Gangsystems bei geringer flächenmäßiger Ausdehnung (Abb. 9 und 10). Vorherrschend sind englumige, verästelte Gänge. Es sind keine Knospen ausgebildet. Acini und Alveolen sind ebenfalls nicht vorhanden.

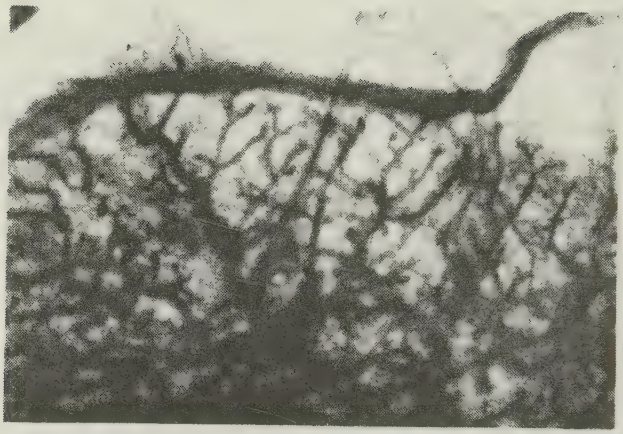

Abb. 9

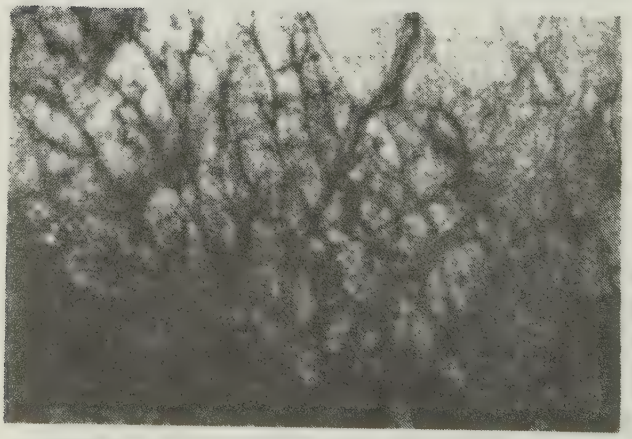

Abb. 10

Gruppe III: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Männchen mit ♀-Hypophysentransplantaten

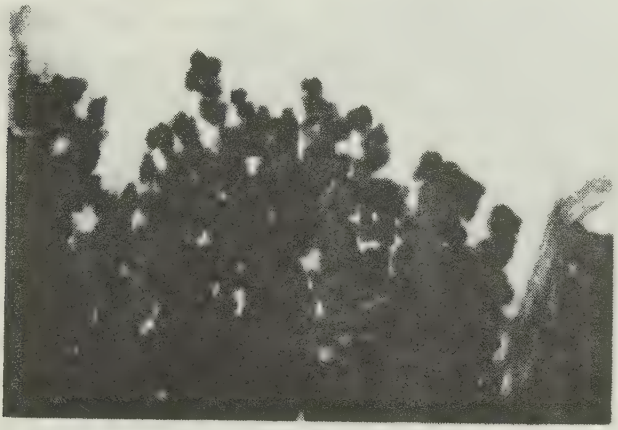

Abb. 11

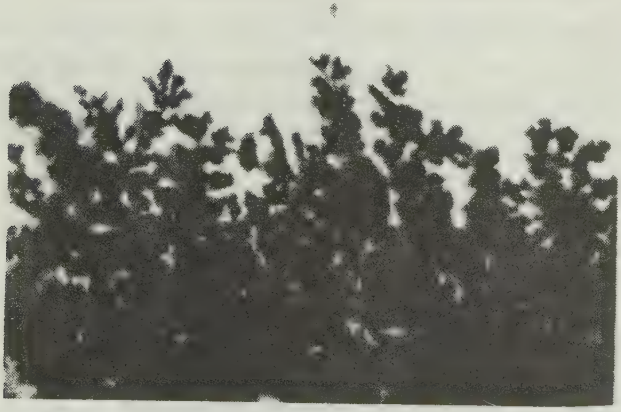

Abb. 12

Hier zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei der Gruppe I (mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Männchen mit ♂-Hypophysentransplantaten). Eine ausgeprägte Verzweigungsstruktur der weitlumigen Gänge beherrscht das Bild. Acini und Trauben von Alveolen, die offensichtlich mit Sekret gefüllt sind, sind ausgebildet (Abb. 11 und 12). Die Ausdehnung der Drüsen in toto entspricht derjenigen der Drüsenkörper der Ratten der Versuchsgruppe I.

Gruppe IV: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Weibchen mit ♀-Hypophysentransplantaten

Bevor eine Beschreibung und Bewertung der für diese Gruppe exemplarischen Präparate (Abb. 13 und 14) gegeben wird, sei noch einmal darauf hingewiesen, daß es sich um periphere Ausschnitte handelt, die zwar Auskunft über Verzweigungsstruktur und Anordnung der Acini und Alveolen gibt, jedoch nichts über das Flächenwachstum der Drüsen in toto aussagt.
Die Drüsenkörper der Weibchen in den Versuchsgruppen IV und VI, die eine Östradiol-Progesteron-Kombination 22 Tage lang injiziert bekamen, zeichneten sich bei der Präparation durch eine übermäßige Ausdehnung und Dichte aus, verglich man sie mit den entsprechenden männlichen Gruppen I und III.

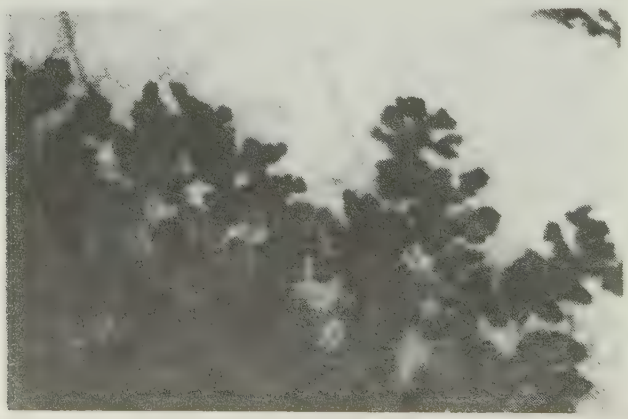

Abb. 13

Abb. 14

Das Gangsystem weist eine starke Verzweigungsstruktur auf. Wie aus den Abb. 13 und 14 klar zu erkennen ist, sind End- und Seitenknospen reichlich vorhanden und die Alveolen stark mit Sekret gefüllt. Die Ausführungsgänge sind von dichten Trauben des Sekretionsgewebes umgeben.
Diese Bilder lassen jedoch erst mit Einbeziehung obiger Bemerkung den Schluß zu, daß die Milchdrüsen der Tiere dieser Behandlungsgruppe in weitaus stärkerem Maße stimuliert worden sind, als die der männlichen Vergleichsgruppe (Gruppe I).

Gruppe V: Weibliche, gonad- und hypophysektomierte Ölkontrollen mit ♀-Hypophysentransplantaten

Ein der Gruppe II nahezu identisches Bild zeigt die Versuchsgruppe der weiblichen, kastrierten, hypophysektomierten und hypophystransplantierten Ölkontrollen.

Das Gangsystem ist locker strukturiert und teilweise sind Andeutungen von Knospen zu erkennen. Acini und Alveolen sind nicht ausgebildet (Abb. 15 und 16).

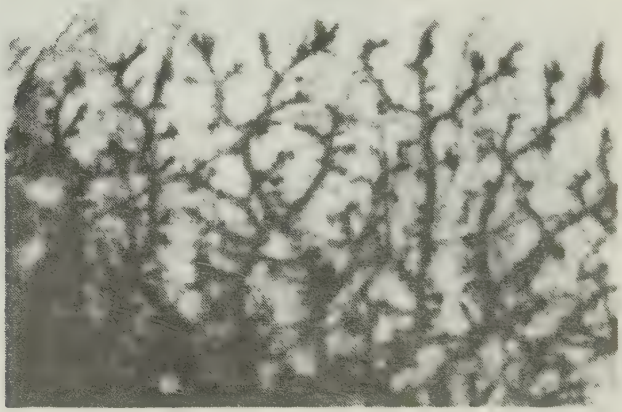

Abb. 15

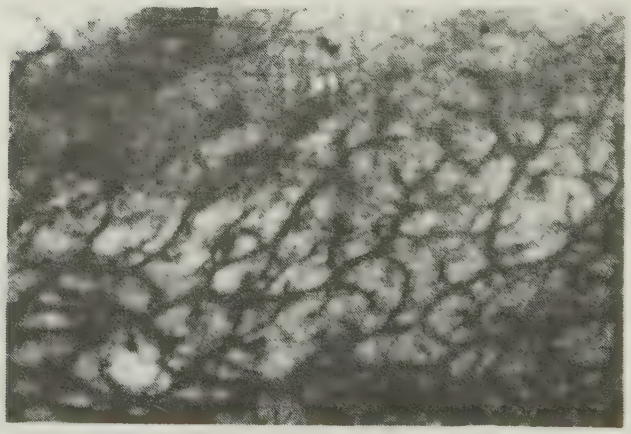

Abb. 16

Gruppe VI: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Weibchen mit ♂-Hypophysentransplantaten

---

Die Milchdrüsen der kastrierten und hypophysektomierten Weibchen mit ♂-Hypophysentransplantaten, die 22 Tage lang mit 10 µg

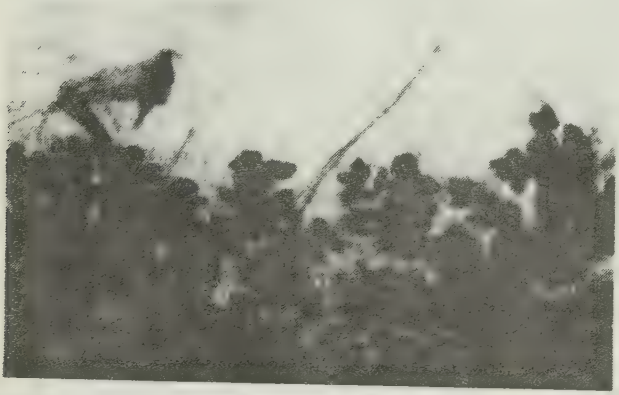

Abb. 17

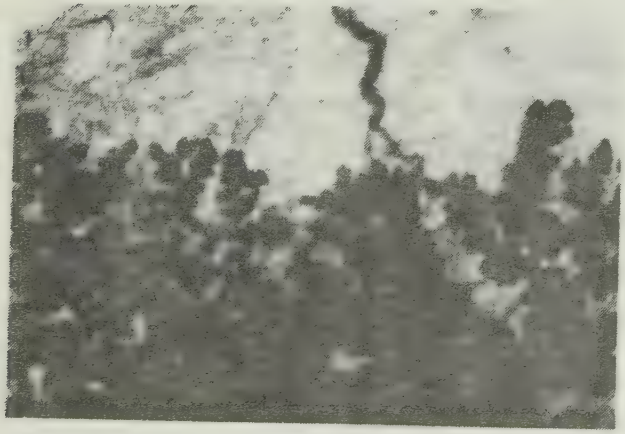

Abb. 18

Östradiol und 30 mg Progesteron behandelt wurden, bieten, ähnlich wie Gruppe IV, das Bild von maximal stimulierten Drüsen, stellt man das starke Flächenwachstum und die dichte Verzweigungsstruktur der Drüsen mit in Rechnung.
Die Ausschnittvergrößerungen(Abb.17 und 18) zeigen deutlich, wie sich mächtig aufgetriebene, offensichtlich sekretgefüllte, Alveolen traubenförmig um die Ausführungsgänge gruppieren.

3.2. MILCHDRÜSEN-HISTOLOGIE *

Die histologische Auswertung der entnommenen Gewebestücke der linken pektoralen Milchdrüsen gibt uns die Möglichkeit, Aussagen über die quantitativen Unterschiede des Milchdrüsenaufbaus zu machen. Die Befunde stehen in einem guten Verhältnis zu den Ergebnissen der Whole-Mount-Preparation.

Gruppe I: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Männchen mit ♂-Hypophysentransplantaten

In der mit Östradiol und Progesteron behandelten Gruppe der gonad- und hypophysektomierten männlichen Ratten mit ♂-Hypophysentransplantaten wird das histologische Bild geprägt von zahlreichen Ducti lactiferi, die zum Teil mit Sekret gefüllt sind. Mittelgroße bis große Komplexe geschlossener Alveolen sind angelegt (Abb. 19 a./19 b.).

* Die Ausschnitte der a.-Abbildungen sind 64-fach vergrößert und die der b.-Abbildungen sind 160-fach vergrößert dargestellt.

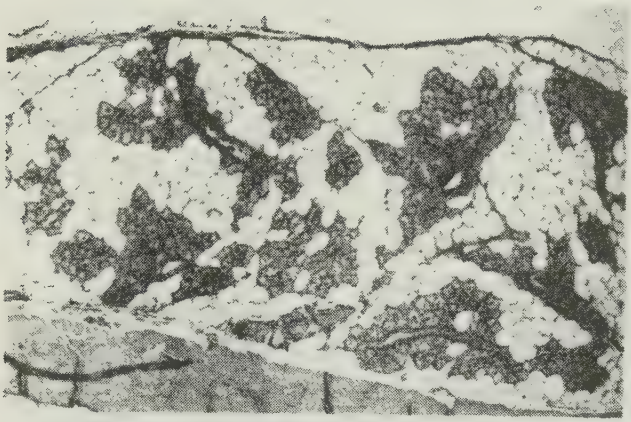

Abb. 19 a.

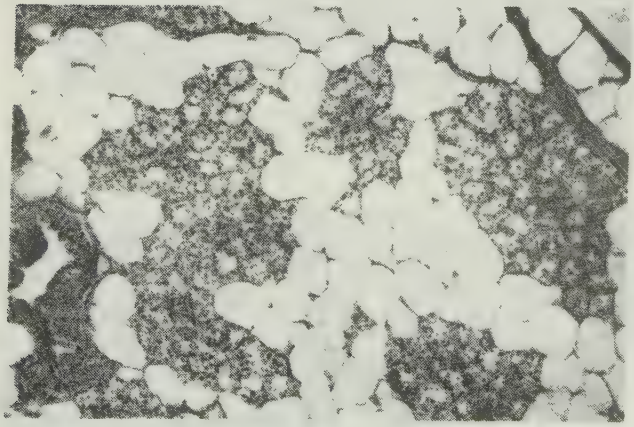

Abb. 19 b.

Gruppe II: Männliche, gonad- und hypophysektomierte Ölkontrollen mit ♂-Hypophysentransplantaten

Die männliche Ölkontrolle der gonad- und hypophysektomierten Ratten mit ♂-Hypophysentransplantaten zeigt in ihren Präparaten das Bild nicht sehr zahlreich vorhandener, recht englumiger Ducti lactiferi. Alveolen sind nicht ausgebildet (Abb. 20 a./ 20 b.). Dieser Befund stimmt auch recht genau mit der Beurteilung der Ausschnittpräparate der Whole Mount Preparation überein.

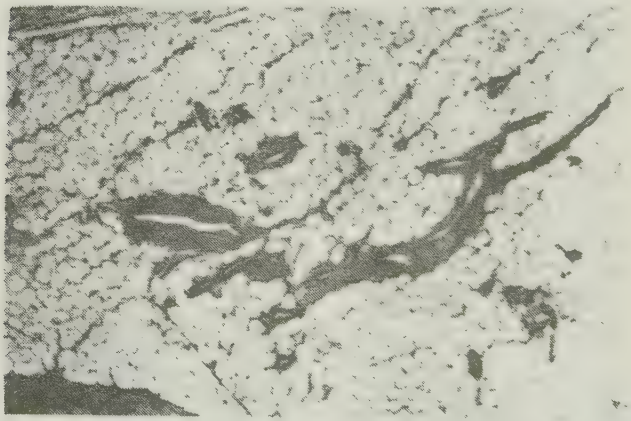

Abb. 20 a.

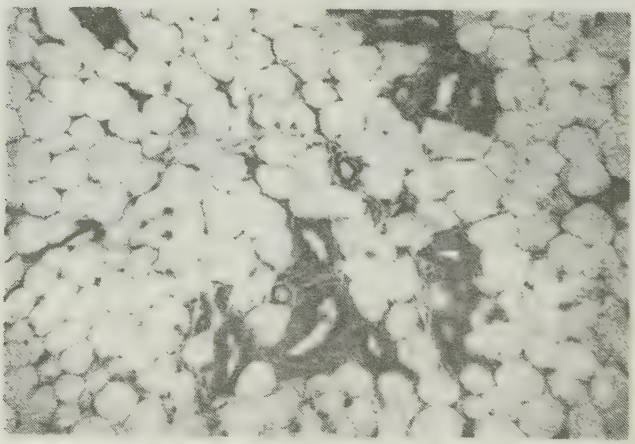

Abb. 20 b.

Gruppe III: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Männchen mit ♀-Hypophysentransplantaten

Diese Gruppe gleicht histologisch der Gruppe I. Es sind zahlreiche mäßig weite Ducti lactiferi angelegt, die zum Teil sekretgefüllt sind. Ferner sind mittelgroße bis große Komplexe geschlossener Alveolen ausgebildet (Abb. 21 a./ 21 b.).

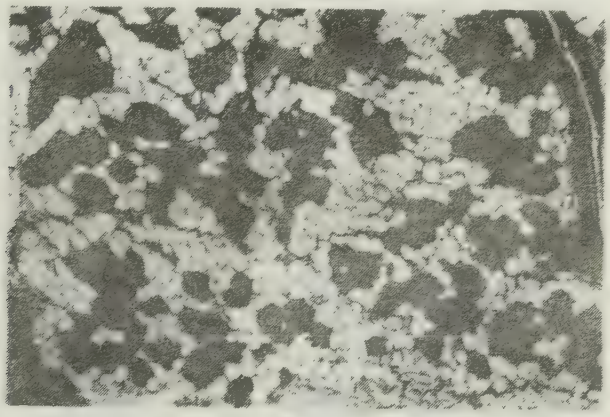

Abb. 21 a.

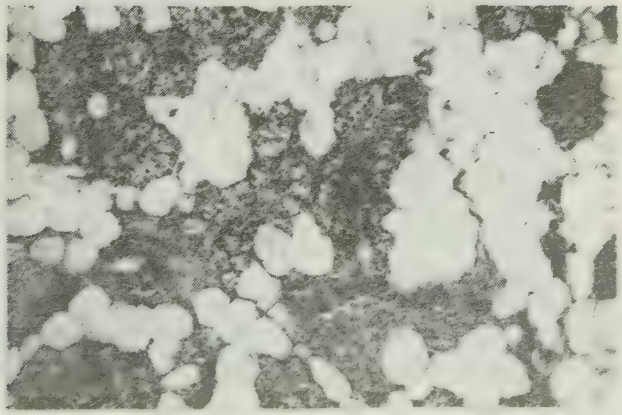

Abb. 21 b.

Gruppe IV: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Weibchen mit ♀-Hypophysentransplantaten

Das histologische Bild dieser Gruppe (Abb. 22 a./ 22 b.) ist identisch mit dem der Gruppe III (Abb. 21 a./b.).
Es muß auch hier darauf hingewiesen werden, daß bei den weiblichen mit Östradiol und Progesteron behandelten Versuchstieren (Gruppe IV und VI) die Milchdrüsen in toto ein bedeutend stärkeres Flächenwachstum zeigten als die der entsprechenden männlichen Behandlungsgruppen (Gruppe I und III), so daß sich daraus auch der signifikante Unterschied im DNA-Gehalt pro Milchdrüsenleiste und im Gewicht der Brustdrüsen zwischen den Gruppen I und IV und den Gruppen III und VI erklären läßt.

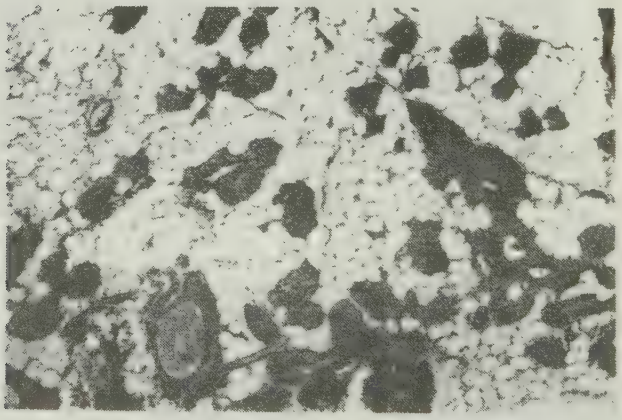

Abb. 22 a.

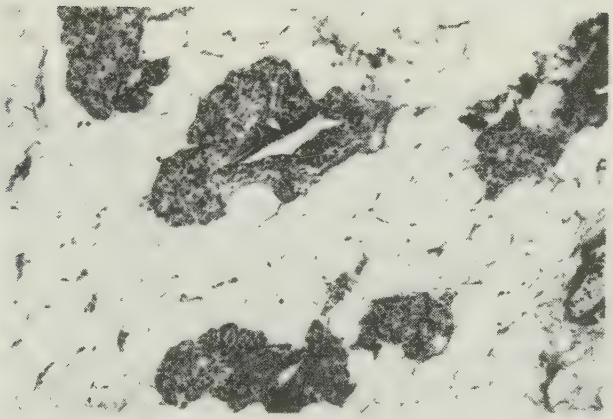

Abb. 22 b.

Gruppe V: Weibliche, gonad- und hypophysektomierte Ölkontrollen mit ♀-Hypophysentransplantaten

---

Das histologische Bild der weiblichen Ölkontrollen läßt erkennen, daß im Vergleich zu der männlichen Kontrollgruppe (Gruppe II)

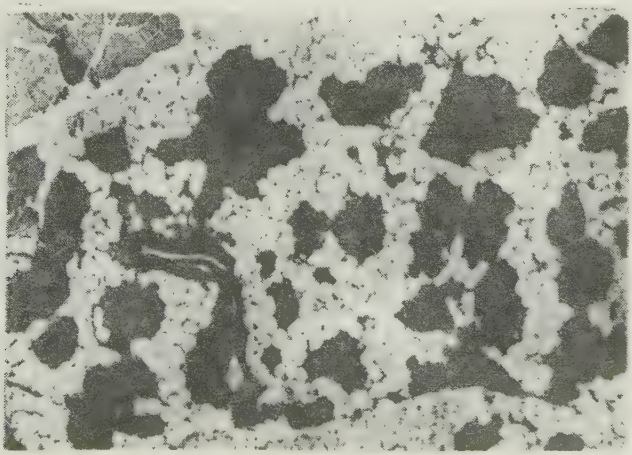

Abb. 23 a.

mehr Ducti lactiferi angelegt sind. Es sind keine Alveolen ausgebildet (Abb. 23 a./ 23 b.).

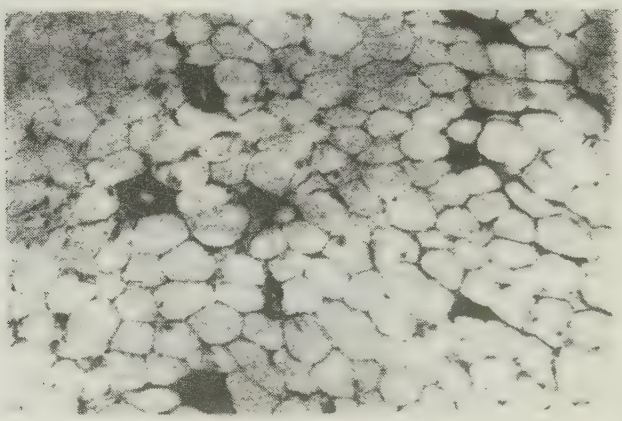

Abb. 23 b.

Gruppe VI: Mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Weibchen mit ♂-Hypophysentransplantaten

---

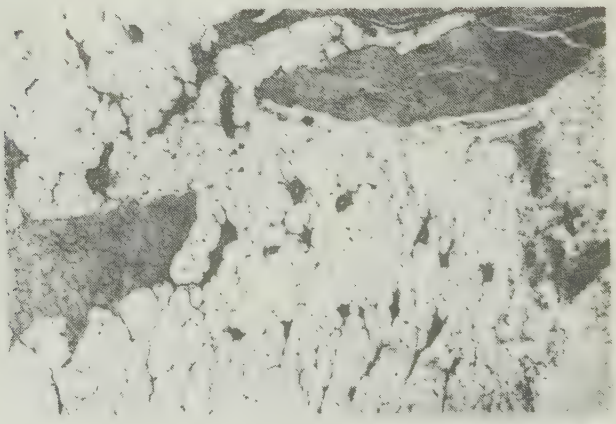

Abb. 24 a.

Hier zeigt sich ein ähnliches Bild wie bei der Gruppe IV. Zahlreiche Ducti lactiferi, die zum Teil mit Sekret gefüllt sind, und mittelgroße bis große Komplexe geschlossener Alveolen sind ausgebildet (Abb. 24 a./ 24 b.).

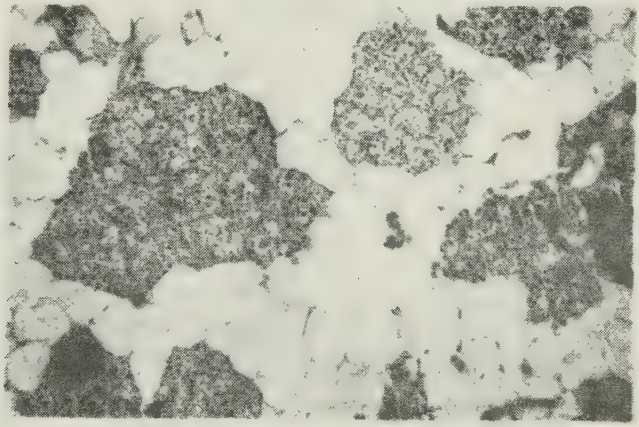

Abb. 24 b.

3.3. DNA-BESTIMMUNG

DNA-GEHALT DER BRUSTDRÜSEN

Gruppe	Behandlung	Zahl der Tiere	Körper-gewicht (g)	DFFT Drüse (mg)	DNA Drüse (µg)
I ♂	GE HE HT♂ OE+P	18	186	46.1 ± 3.4	879.6 ± 96.2
III ♂	GE HE HT♀ OE+P	13	182	42.9 ± 3.3	919.6 ± 91.6
IV ♀	GE HE HT♀ OE+P	14	182	88.2 ± 4.7	2084.6 ± 123.4
VI ♀	GE HE HT♂ OE+P	17	187	87.0 ± 4.9	1897.0 ± 176.4
Öl-Kontrollen				nicht erfaßt	

Mittlerer Fehler berechnet nach der Formel: $s_x = \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{\frac{n-1}{1n}}}$

GE = Gonadektomie
HE = Hypophysektomie
HT♂ = ♂ - Hypophysentransplantat
HT♀ = ♀ - Hypophysentransplantat
OE+P = 10 µg Östradiol + 30 mg Progesteron 22 Tage lang s.c.
DFFT = Dry fat free tissue

Abb. 25

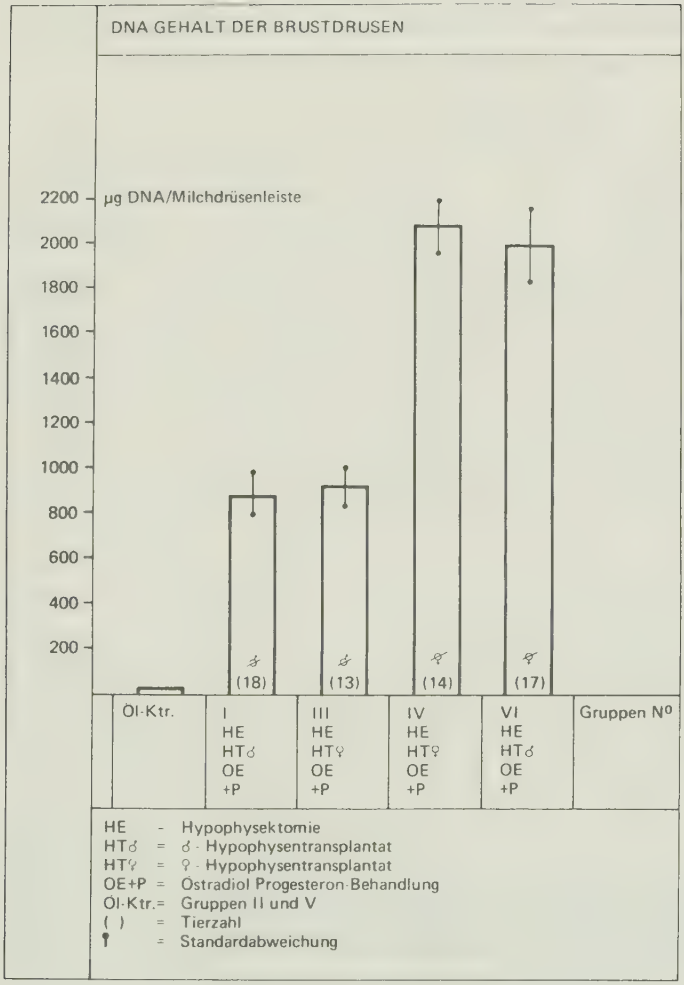
DNA GEHALT DER BRUSTDRUSEN
µg DNA/Milchdrüsenleiste
2200
2000
1800
1600
1400
1200
1000
800
600
400
200
♂ (18)
♂ (13)
♀ (14)
♀ (17)
Öl-Ktr.
I HE HT♂ OE +P
III HE HT♀ OE +P
IV HE HT♀ OE +P
VI HE HT♂ OE +P
Gruppen Nº
HE - Hypophysektomie
HT♂ = ♂ - Hypophysentransplantat
HT♀ = ♀ - Hypophysentransplantat
OE+P = Östradiol Progesteron-Behandlung
Öl-Ktr.= Gruppen II und V
( ) = Tierzahl
= Standardabweichung

Abb. 26

Die Befunde der makroskopischen Beurteilung der präparierten abdominal-inguinalen Milchdrüsen in toto, sowie deren Ausschnittpräparate, und die Befunde der Milchdrüsen-Histologie werden durch die Abbildungen 25 und 26 bestätigt.

Es muß jedoch vermerkt werden, daß eine Erfassung des DNA-Gehaltes der abdominal-inguinalen Drüsen rechts der Öl-Kontrollgruppen nicht durchgeführt werden konnte aus Gründen, die unter Punkt - 3.4. Milchdrüsen-Gewicht - aufgeführt sind.

Wie aus der Abbildung 25 hervorgeht, weisen die vier Gruppen beachtliche Unterschiede auf. Die Gruppen I und III, mit Östradiol und Progesteron behandelte gonad- und hypophysektomierte Männchen mit ♂-Hypophysentransplantaten (Gruppe I) bzw. ♀-Hypophysentransplantaten (Gruppe III) weichen mit 879,6 Mikrogramm und 919,6 Mikrogramm DNA pro Drüse kaum voneinander ab, obwohl sie sich in ihren Transplantaten unterscheiden.

Ein ähnliches Ergebnis liefern die beiden weiblichen Gruppen IV und VI. Auch sie unterscheiden sich letztlich nur in ihren Hypophysentransplantaten, was sich jedoch auch hier nicht auf den DNA-Gehalt pro Drüse auswirkt. Mit Werten von 2084,6 und 1897,0 Mikrogramm DNA pro Drüse bringen die Gruppen IV und VI sehr deutlich die maximale Stimulierung des Drüsengewebes zum Ausdruck.
Dieses Ergebnis steht insofern in Einklang mit den Befunden der Whole Mount Preparation als die weiblichen Gruppen IV und VI ein bedeutend ausgeprägteres Flächenwachstum der Milchdrüsen zum Zeitpunkt der Präparation aufwiesen. Auch die Bewertung der histologischen Milchdrüsenpräparate ließ die o.g. Unterschiede erkennen.

Eine statistische Aufarbeitung der bei der Bestimmung ermittelten mg - Werte an DFFT pro Drüse und µg - Werte DNA pro Drüse ergab, daß das Trockengewicht (DFFT) signifikante Unterschiede zwischen den männlichen und weiblichen Gruppen aufweist.

DFFT/Drüse (mg) Mittelwert	Gruppen	III ♂	IV ♀	VI ♀
46,12	I ♂	–	+	+
42,91	III ♂		+	+
88,23	IV ♀			–
87,03	VI ♀			

– = $P > 0{,}05$
\+ = $P < 0{,}05$

(SCHEFFÉ-Test)

Das Trockengewicht kann daher nicht als Kovariable für einen Vergleich aller vier Gruppen einbezogen werden.

Kovarianzanalyse

Es wurden jeweils zwei Gruppen miteinander verglichen, d.h. der Vergleich wurde für männliche (Gruppe I und III) und weibliche Tiere (Gruppe IV und VI) getrennt durchgeführt. Die Kovarianzanalyse "Trockengewicht - DNA" ergab folgendes:

1. für die Gruppen I und III, männliche Versuchstiere:
   - Es besteht eine enge Korrelation zwischen Trockengewicht und DNA.
     Gruppe I ♂ ⟶ r = 0,8999
     Gruppe III ♂ ⟶ r = 0,9132
   - Die Kovariable "Trockengewicht" hat einen signifikanten Einfluß.
   - Zwischen den Gruppen I und III existiert kein signifikanter Unterschied.
2. für die Gruppen IV und VI, weibliche Versuchstiere:
   - Es besteht eine enge Korrelation zwischen Trockengewicht und DNA.
     Gruppe IV ♀ ⟶ r = 0,8945
     Gruppe VI ♀ ⟶ r = 0,9080
   - Die Kovariable "Trockengewicht" hat einen signifikanten Einfluß.
   - Zwischen den Gruppen IV und VI besteht kein signifikanter Unterschied.

Der Korrelationskoeffizient r bewegt sich bei dieser Untersuchung bei allen vier Gruppen um einen Wert von + 0,9. Es liegt also eine ziemlich enge funktionale Abhängigkeit zwischen Trockengewicht und DNA vor, wenn man berücksichtigt, daß der Korrelationskoeffizient bei einer streng linearen Abhängigkeit seinen höchstmöglichen Wert + 1 annimmt. Stellt man die biologische Variabilität des Materials in Rechnung, muß r folgerichtig kleiner als eins sein.

Die Abbildung 27 zeigt die Korrelation zwischen Trockengewicht und DNA-Gehalt pro Milchdrüse.

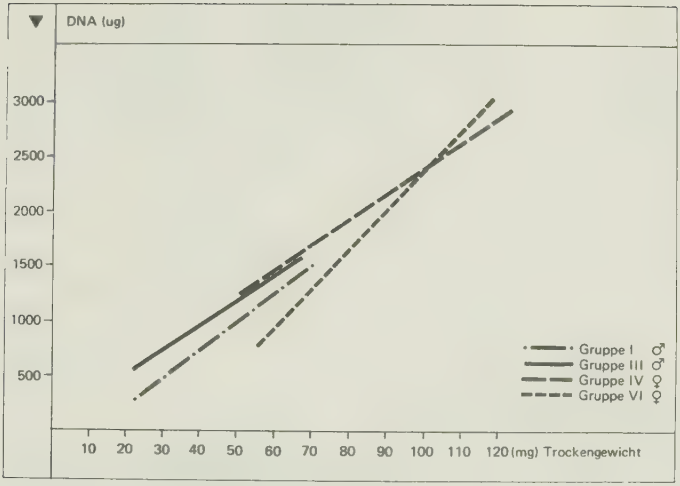

Abbildung 27

Die aufgetragenen Geraden werden durch die Gleichung $y = a + bx$ charakterisiert, wobei a und b die Lage und die Steigung der Geraden anzeigen.

y = a + bx / Gruppen	a	b
I ♂	− 312.2453	25.8427
III ♂	− 159.3948	25.1453
IV ♀	10.5739	23.5067
VI ♀	− 939.7564	32.5921

3.4. MILCHDRÜSEN-GEWICHT

Bei den Gruppen II und V, also den Öl-Kontrollen konnte das Milchdrüsen-Gewicht der abdominal-inguinalen Drüsen rechts der einzelnen Tiere nicht erfaßt werden, da eine Abtrennung vom Tierkörper und anschließende Freipräparierung des eigentlichen Drüsenkörpers von Fett- und Bindegewebe nicht möglich war. Das Drüsengewebe war zu schwach entwickelt. Dies zeigen auch die Ergebnisse der Ausschnittpräparate der Whole Mount Preparation, der Milchdrüsen-Histologie und der DNA-Bestimmung.

Die Öl-Kontrollgruppen stellen ebenso wie bei der DNA-Bestimmung den sog. "Nullwert" dar.
Die Abbildungen 28 und 29 bestätigen die Ergebnisse der DNA-Bestimmung in den wesentlichen Punkten.

MILCHDRÜSEN - GEWICHT

Gruppe	Behandlung	Zahl der Tiere	Körper-gewicht (g)	mtl. Milch-drüsen-Gew. (g)
I ♂	GE HE HT♂ OE+P	18	186	597 ± 44,5
III ♂	GE HE HT♀ OE+P	14	182	548 ± 46,1
IV ♀	GE HE HT♀ OE+P	14	182	1187 ± 49,4
VI ♀	GE HE HT♂ OE+P	17	187	1337 ± 62,9
Öl-Kontrollen				nicht erfaßt

GE = Gonadektomie
HE = Hypophysektomie
HT♂ = ♂ - Hypophysentransplantat
HT♀ = ♀ - Hypophysentransplantat
OE+P = 10 ug Östradiol + 30 mg Progesteron 22 Tage lang s.c.
ÖL = Öl-Kontrolle

Abbildung 28

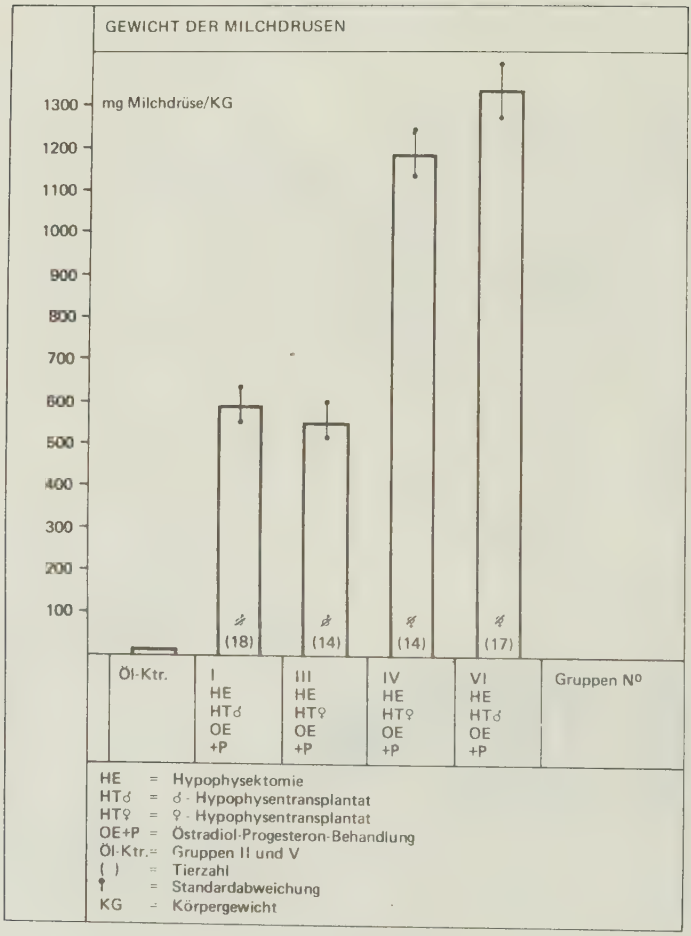

Abbildung 29

Da die Milchdrüsengewichte aller Versuchstiere einzeln erfaßt und somit ein mittleres Milchdrüsengewicht für jede Gruppe ermittelt werden konnte, war eine Varianz- und Kovarianzanalyse durchführbar, die den Vergleich der Gewichte der freipräparierten abdominal-inguinalen Milchdrüsen rechts der Ratten der vier Versuchsgruppen (I, III, IV, VI) nach einer Behandlung mit 10 µg Östradiol und 30 mg Progesteron untersucht.

Die Auswertung ergab folgendes Ergebnis:

1. Varianzanalyse

Zwischen den Gruppen I, III, IV und VI besteht in bezug auf die Körpergewichte am Tötungstag kein signifikanter Unterschied ($P > 0,05$). Das Körpergewicht kann daher als Kovariable in die Rechnung mit einbezogen werden.

2. Kovarianzanalyse

Das Körpergewicht beeinflußt das Milchdrüsen-Feuchtgewicht signifikant.

Zwischen den Gruppen I, III, IV und VI besteht folgender signifikanter Unterschied:

Milchdrüsen-Feuchtgew. (mg)

Mittelwert	adjustierter Mittelwert	Gruppen	III ♂	IV ♀	VI ♀
597,33	592,63	I ♂	–	+	+
548,43	556,98	III ♂		+	+
1186,71	1193,98	IV ♀			–
1337,41	1329,36	VI ♀			

– = $P > 0,05$
\+ = $P < 0,05$

(SCHEFFÉ-Test)

3.5. RADIOIMMUNOLOGISCHE SERUM-PROLACTIN-BESTIMMUNG

SERUM-PROLACTIN-BESTIMMUNG

Gruppe	n	Behandlung	NIAMD-RP-1 Prolactin (ng/ml) Mittelwert ± Standardabweichung
I ♂	18	GE HE HT♂ OE+P	358 ± 39
II ♂	19	GE HE HT♂ ÖI	75 ± 5
III ♂	14	GE HE HT♀ OE+P	408 ± 30
IV ♀	14	GE HE HT♀ OE+P	286 ± 39
V ♀	20	GE HE HT♀ ÖI	55 ± 6
VI ♀	17	GE HE HT♂ OE+P	351 ± 38

HE = Hypophysektomie
HT♂ = ♂-Hypophysentransplantat
HT♀ = ♀-Hypophysentransplantat
OE+P = 10 ug Östradiol + 30 mg Progesteron über 22 Tage s.c.
ÖI = ÖI-Kontrolle
n = Anzahl der Proben

Standardabweichung der Einzelwerte berechnet nach der Formel:

$$\bar{x} \pm \text{S.E.M.} \qquad \text{S.E.M.} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

Abbildung 30

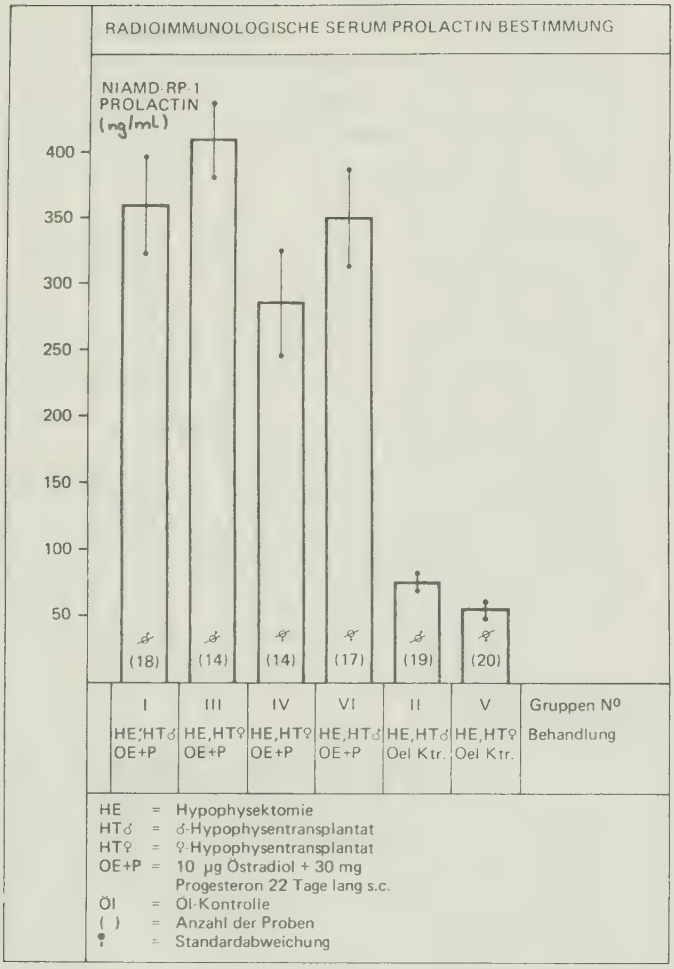

Abbildung 31

Wie aus der Abbildung 30 hervorgeht, weisen die vier Gruppen I, III, IV und VI keine auffallenden Unterschiede in ihren Serum-Prolactin-Spiegeln auf.
Betrachtet man die graphische Darstellung (Abbildung 31), so fällt auf, daß höchstwahrscheinlich weder das Geschlecht des Versuchstieres noch das "Geschlecht" der transplantierten Hypophysen (ob männlich oder weiblich) einen Einfluß auf das im Serum gemessene PROLACTIN ausübt.
Eine statistische Aufarbeitung der vorhandenen PROLACTIN-Meßwerte hat diese Annahme voll bestätigt.

Die angewandte zwei-faktorielle Varianzanalyse (Faktor 1 = Geschlecht des Versuchstieres; Faktor 2 = "Geschlecht" des Hypophysentransplantats, ♂ oder ♀) hat eindeutig ergeben, daß kein signifikanter Unterschied ($P > 0.05$) besteht

1. zwischen männlichen und weiblichen Versuchstieren und
2. zwischen den ♂- und ♀-Hypophysentransplantaten bei den männlichen Versuchsgruppen (I und III) und bei den weiblichen Versuchsgruppen (IV und VI).

3.6. NEBENNIEREN-GEWICHT

Die Abbildungen 32 und 33 zeigen deutlich, daß das Gewicht der Nebennieren pro 100 g Körpergewicht in den Gruppen I bis VI beträchtlich unter dem der weiblichen und männlichen gonadektomierten Kontrollgruppen liegt.

NEBENNIEREN-GEWICHT					
Gruppe	Behandlung	Zahl der Tiere	Körper-gewicht (g)	NN-Gew. (mg)	NN-Gew. pro 100 g KG (mg)
I ♂	GE HE HT♂ OE+P	18	186	13 ± 0.67	7 ± 0.36
II ♂	GE HE HT♂ ÖL	19	166	13 ± 0.72	8 ± 0.49
III ♂	GE HE HT♀ OE+P	15	180	17 ± 1.07	10 ± 0.56
IV ♀	GE HE HT♀ OE+P	15	181	18 ± 1.00	10 ± 0.60
V ♀	GE HE HT♀ ÖL	20	168	17 ± 0.69	10 ± 0.41
VI ♀	GE HE HT♂ OE+P	19	184	16 ± 0.89	9 ± 0.47
Ktr. ♂	GE ÖL	8	285	63 ± 8.30	22 ± 2.41
Ktr. ♀	GE ÖL	10	263	73 ± 3.51	27 ± 0.89

Mittlerer Fehler berechnet nach der Formel: $s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\Sigma x^2}{\frac{n-1}{1n}}}$

GE = Gonadektomie
HE = Hypophysensektomie
HT♂ = ♂-Hypophysentransplantat
HT♀ = ♀-Hypophysentransplantat
OE+P = 10 ug Östradiol + 30 mg Progesteron 22 Tage lang s.c.
ÖL = Öl-Kontrolle
Ktr. = Kontrollgruppe
KG = Körpergewicht

Abbildung 32

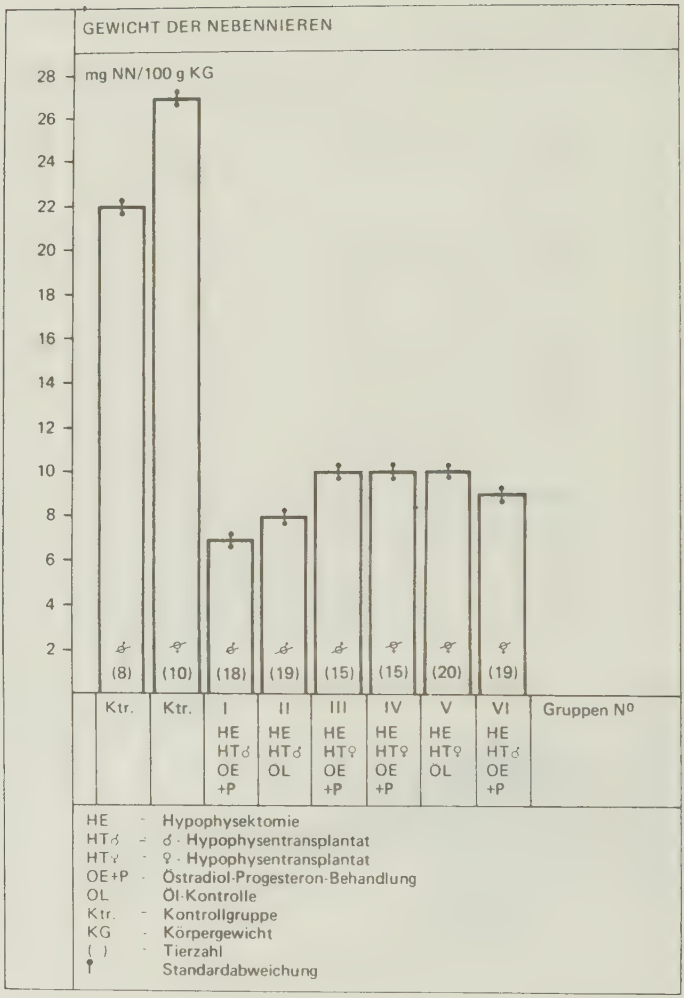

Abbildung 33

IV. DISKUSSION

4.1. AUFGABENSTELLUNG DER ARBEIT

Die Arbeitsgruppe RIESER, SCHULZ und NEUMANN (1970) konnte an Hand ihrer Experimente zeigen, daß bei neugeborenen Ratten zwischen männlichen und weiblichen oder feminisierten männlichen bzw. virilisierten weiblichen Tieren hinsichtlich der Drüsengewebsanlagen keine quantitativen Unterschiede auftreten.

Induziert man jedoch mittels einer entsprechenden Östradiol-Progesteron-Behandlung über 22 Tage eine Pseudogravidität, so kommt es zwischen männlichen und weiblichen Ratten zu klar erkennbaren Unterschieden in der Milchdrüsengewebsentwicklung: Weibliche Tiere zeigen dann ein ausgeprägteres Milchdrüsenwachstum als männliche Tiere.

Die Autoren NEUMANN, ELGER und STEINBECK (1971) stellten die in Abbildung 2 dargestellte Hypothese auf, wonach die unterschiedliche Milchdrüsengewebsentwicklung dadurch zustande kommen soll, daß bei weiblichen und männlichen Individuen der positive "feed-back-Mechanismus" zwischen Östrogenen und PROLACTIN unterschiedlich arbeitet.
Diese Hypothese, die den Ausgangspunkt der vorliegenden Arbeit bildete, konnte auf Grund des angewendeten Versuchsmodells weder bestätigt noch verworfen werden.
Es liegen keinerlei konkrete Hinweise dafür vor, daß eine geschlechtsspezifische Differenzierung im Hypothalamus verantwortlich ist für die Prägung einer vermuteten unterschiedlichen Arbeitsweise des positiven Rückkoppelungs-Mechanismus zwischen Östradiol und PROLACTIN.

Vielmehr wiesen die Ergebnisse zunächst darauf hin, daß eine geschlechtsspezifische Differenzierung der Hypophyse möglicherweise mitverantwortlich ist für die zu beobachtende geschlechtsunterschiedliche Milchdrüsengewebsentwicklung bei Ratten nach Induktion einer Pseudogravidität.
Sie waren somit richtungsweisend für die weiteren Experimente, durch die geklärt werden sollte, ob die bei Ratten nach Induktion einer Pseudogravidität zu beobachtende geschlechtsunterschiedliche Reaktion des target-Organs, der Milchdrüse, allein dem direkten Einfluß geschlechtsspezifisch-differenzierter Hypophysen unterliegt, oder ob nicht das Mammagewebe per se Geschlechtsunterschiede auf der Basis der Hormon-Rezeptoren für PROLACTIN aufweist.

4.2. BEGRÜNDUNG DES VERSUCHSMODELLS

Das Erfolgsorgan für PROLACTIN, das weibliche und männliche Ratten gemeinsam haben, ist die Milchdrüse. Die Untersuchungen der Milchdrüse bildeten daher die Grundlage des Versuchs, neben der radioimmunologischen Bestimmung des Serum-Prolactin-Spiegels.

PROLACTIN ist der wichtigste Faktor im mammogenen Hormonkomplex. Ohne PROLACTIN ist kein vollständiger lobulo-alveolärer Milchdrüsenaufbau möglich (REECE und LEONARD 1939, 1942; LYONS, SIMPSON und EVANS 1942; LYONS 1958; NELSON 1950, 1952; LYONS et al. 1953; LYONS, LI und JOHNSON 1958).
Da beim männlichen Tier eine Stimulierung durch Cervix-Reizung oder durch Saugreiz nicht durchführbar ist, war die Auslösung der PROLACTIN-Sekretion in beiden Geschlechtern nur durch Östradiol und Progesteron möglich.

Progesteron induziert zusammen mit PROLACTIN die vollständige lobulo-alveoläre Entwicklung.
Eine Östradiol-Progesteron-Behandlung über 22 Tage s.c. (Induktion einer Pseudogravidität) ermöglicht ein optimales Zusammenwirken der mammogenen Hormone.

Ein übergeordnetes Zentrum im Hypothalamus übt einen permanent hemmenden Einfluß auf die hypophysäre Prolactinproduktion aus. Eine Senkung des PIF (prolactin-inhibiting-factor) durch Östradiol führt zu einer erhöhten Prolactinausschüttung (McCANN und FRIEDMANN 1960; NICOLL und MEITES 1962; SAWYER et al. 1963; KANEMATSU, HILLIARD und SAWYER 1963; KOBAYASHI et al. 1963; BEN-DAVID, DIKSTEIN und SULMAN 1964; RAMIREZ und McCANN 1964; GROSVENOR, McCANN und NALLAR 1965; NIKITOVITCH-WINER 1965; MISHKINSKY, LAJTOS und SULMAN 1966; ROBBOY und KAHN 1966; DE VOE, RAMIREZ und McCANN 1966; KUROSHIMA et al. 1966; SAR und MEITES 1967; ARIMURO et al. 1967; GROSVENOR et al. 1967; DHARIVAL et al. 1968).
Die Differenzierung des hypothalamischen PIF-Zentrums ist androgenabhängig (VON HASSELBACH 1970). Sie erfolgt in der letzten Schwangerschaftswoche (BERGER 1971).

Im vorliegenden Experiment wurde die natürliche Verbindungsachse Hypothalamus ——— Hypophyse unterbrochen. Die Versuchstiere wurden hypophysektomiert und in einer nachfolgenden Operation wurden den männlichen Versuchstieren Hypophysen weiblicher bzw. männlicher Spender-Ratten und entsprechend den weiblichen Versuchstieren Hypophysen männlicher bzw. weiblicher Spender-Ratten unter die Nierenkapseln transplantiert.

Der PROLACTIN-Hemmfaktor (PIF) erreichte nun sein Erfolgsorgan - die Hypohyse - nicht mehr oder nur in sehr geringen Konzentrationen (NIKITOVITCH-WINER 1965).

Dies war für den Versuch von entscheidender Bedeutung.

Den Grad der hypophysären PROLACTIN-Sekretion konnten wir zum einen direkt durch die radioimmunologische Bestimmung des Serum-Prolactin-Spiegels, und zum anderen indirekt durch den PROLACTIN-Effekt am Zielorgan, der Milchdrüse, messen. Dabei wurden die vier folgenden Methoden angewandt:

1. Milchdrüsengewicht
2. Whole Mount Preparation (Ausschnittpräparate)
3. Milchdrüsen-Histologie
4. DNA-Bestimmung

Bei der oben genannten Versuchsdurchführung

- der Unterbrechung der Hypothalamus-Hypophysen-Achse,
- der Transplantation von Hypophysen 'gegengeschlechtlicher' Spender-Ratten und
- der 22-tägigen Stimulation mit einer Östradiol-Progesteron-Kombination

war eine der folgenden Möglichkeiten zu erwarten:

a.) Die männlichen Versuchstiere mit 'weiblichen' Hypophysentransplantaten reagieren wie die weiblichen Ratten mit 'weiblichen' Hypophysentransplantaten und umgekehrt reagieren die weiblichen Ratten mit Heterotransplantaten wie die männlichen Tiere mit Homotransplantaten, d.h. mit gleichen DNA-Werten und Serum-Prolactin-Spiegeln.
Ein solches Ergebnis ließe den Schluß zu, daß eine geschlechtsspezifische Differenzierung der Hypophyse allein ausschlaggebend für die unterschiedliche Stimulierung des Milchdrüsengewebes ist.

b.) Bei gleichem Serum-Prolactin zeigen die behandelten männlichen Versuchstiere mit männlichen oder weiblichen Hypophysen-

transplantaten eine bedeutend schwächere Milchdrüsengewebsentwicklung als die weiblichen behandelten Ratten mit männlichen oder weiblichen Hypophysentransplantaten.
Dies wäre als Beweis für die dieser Arbeit zugrunde liegenden Vermutung zu werten, die dem Zielorgan selbst eine geschlechtsunterschiedliche Prägung zuschreibt.

4.3. INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die Untersuchung hat eindeutig ergeben, daß zwischen den männlichen und weiblichen Versuchsgruppen, die gonad- und hypophysektomiert waren und männliche oder weibliche Hypophysentransplantate erhielten und einer Östradiol-/Progesteron-Behandlung zugeführt wurden, merkliche Unterschiede in der Milchdrüsengewebsentwicklung auftreten.

Wie ein Vergleich der Gruppen I und VI, bzw. der Gruppen III und IV miteinander ergibt, wurde das Milchdrüsenwachstum der weiblichen Individuen (Gruppen IV und VI) durch diese Behandlung bedeutend stärker stimuliert, unabhängig davon, ob männliche oder weibliche Hypophysen zu Beginn des Versuches transplantiert wurden.

An dieser Stelle sei an die Abbildungen 26 und 29 erinnert, deren Graphiken den PROLACTIN-Effekt am Erfolgsorgan, der Milchdrüse, in recht anschaulicher Weise darstellen.
Keine signifikanten Unterschiede im radioimmunologisch bestimmten Serum-Prolactin sind zwischen den mit Östradiol und Progesteron behandelten männlichen und weiblichen Versuchsgruppen feststellbar gewesen.
Dieser Parameter blieb offensichtlich unbeeinflußt davon, ob männliche oder weibliche Hypophysen unter die Nierenkapseln transplantiert wurden.

Diese in-vivo-Versuche bestätigen die von MEITES und NICOLL (1966) und KANEMATSU und SAWYER (1963) durch in-vitro-Versuche festgestellte Direktwirkung des Östradiols auf die Hypophyse ohne Zwischenschaltung des Hypothalamus.
Die erzielten Versuchsergebnisse berechtigen zu der Aussage, daß sowohl die Hypophysen von weiblichen Ratten wie auch von männlichen Tieren nach Substitution von Östradiol die gleiche Reaktion zeigen.

Es konnte also die Vermutung, daß eine Differenzierung der Hypophyse vorliegt, so daß bei der männlichen Ratte auf den gleichen exogenen Stimulus nicht so viel mammotropes Hormon im Hypophysenvorderlappen gebildet oder ausgeschüttet werden kann wie beim weiblichen Tier, bei dem hier angewandten Versuchsmodell nicht bestätigt werden.
Die Ergebnisse der DNA-Bestimmung (Abb. 26) und der radioimmunologischen Prolactin-Messung (Abb. 31) weisen vielmehr stark darauf hin, daß die Möglichkeit der geschlechtsunterschiedlichen Differenzierung des Milchdrüsengewebes auf der Ebene der Hormon-Rezeptoren für PROLACTIN sehr wahrscheinlich ist.
Auch die in der Tab. 2 und Abb. 6 zusammengefaßten und dargestellten Ergebnisse eines Versuchsansatzes, bei dem nur Hypophysen gleichgeschlechtlicher Spender-Ratten implantiert wurden, sprechen für die Möglichkeit eines geschlechtsspezifischen Prolactin-Rezeptors im target-Organ, sieht man diese Befunde im Zusammenhang mit den übrigen Daten.
Man sollte an dieser Stelle darauf hinweisen, daß es auf Grund der gewählten Dosierung von 10 µg Östradiol und 30 mg Progesteron und der langen Applikationszeit von 22 Tagen zu einer Überstimulierung der Hypophysen gekommen sein kann. Beide, Dosierung und Applikationsdauer, waren aber unbedingt nötig, um eine Reaktion

am Erfolgsorgan, der Milchdrüse, deren geschlechtsunterschiedliche Gewebsentwicklung in ihren Ursachen aufzuklären war, auszulösen.

NEILL (1972), der bei Gaben von nur 0.5 µg Östradiolbenzoat am ersten und 50 µg am zweiten Tag, die radioimmunologische Serum-Prolactin-Bestimmung aus Blutproben vornahm, die in 2-Stunden-Intervallen am dritten Tag gesammelt wurden, konnte folgende Beobachtung machen: Eine Östrogenbehandlung weiblicher Ratten, die im Adultstadium ovarektomiert wurden, und reifer neonatal kastrierter männlicher Tiere, ließ die Prolactin-Sekretion auf 100 ng/ml ansteigen. Männliche Ratten, die erst nach Eintritt der Reife kastriert wurden, und androgen-sterilisierte Weibchen, die ebenfalls erst als reife Individuen kastriert wurden, ließen dagegen keinen Anstieg des Prolactin-Spiegels als Antwort auf die Östrogenbehandlung erkennen; der Prolactin-Spiegel betrug hier nur zwischen 10 bis 20 ng/ml. Im Gegensatz zu diesen Sexualunterschieden sind die Basis-Prolactin-Spiegel von unbehandelten gonadektomierten Männchen oder androgensterilisierten weiblichen Ratten signifikant höher als bei unbehandelten gonadektomierten weiblichen Ratten oder neonatal kastrierten männlichen Tieren.

Der Anstieg der Prolactin-Sekretion in östrogenbehandelten weiblichen Ratten, die erst als adulte Tiere ovarektomiert wurden, war gehemmt worden durch einen retrochiasmatischen Schnitt, der den vorderen vom medialen Teil des Hypothalamus trennt. Diese Ergebnisse zeigen fundamentale Geschlechtsunterschiede in der Regulation der Prolactin-Sekretion. Diese Unterschiede können das Resultat von Androgenen sein, die im neonatalen Tier die Organisation eines rostralen 'surge center' hemmen; folglich wird dann die Möglichkeit, einen Anstieg der Prolactin-Sekretion zu erzeugen, unterdrückt. Androgene können also die funktionalen

Fähigkeiten des medialen Hypothalamus, den PIF ('prolactin-inhibiting-factor') auszuschütten, vermindern, was sich in höheren tonischen Prolactin-Spiegeln ausdrückt.

Man kann auf Grund dieser Befunde von NEILL die Möglichkeit nicht ausschließen, daß der Hypothalamus doch über den 'prolactin-inhibiting-factor' die Prolactin-Ausschüttung regulierend beeinflußt. Da der PIF zur Zeit noch nicht direkt im Serum zu bestimmen ist, kann nicht ausgeschlossen werden, daß dieser hypothalamische Hemmfaktor die Hypophysen unter den Nierenkapseln erreicht, wenn dies auch nicht gerade sehr wahrscheinlich ist.

Die von NEUMANN und Mitarbeitern 1971 aufgestellte Hypothese konnte nicht bestätigt, aber auch nicht widerlegt werden.

Wenn auch die vorliegenden Untersuchungsergebnisse darauf hindeuten, daß das Milchdrüsengewebe per se geschlechtsdifferenziert ist, so darf man trotzdem die NEILL-Studie nicht außer acht lassen, die auf der Basis eines anderen Versuchsmodells zeigte, daß Geschlechtsunterschiede in der Regulation der PROLACTIN-Sekretion zu finden sind. Möglicherweise sind Geschlechtsunterschiede im Mammagewebe und in der Regulation der PROLACTIN-Sekretion (über ein hypothalamisches Zentrum) für die zu beobachtende sexualspezifische Reaktion des untersuchten Zielorgans - der Milchdrüse - verantwortlich.
Um eine eindeutige Aussage zu treffen, ob ausschließlich eine Prägung des peripheren Milchdrüsengewebes für die bei männlichen und weiblichen Ratten auftretende unterschiedliche Gewebsentwicklung bei gleichhohen Serum-Prolactin-Spiegeln verantwortlich ist, bedarf es weiterer klärender Versuche.

Die Versuche könnten unter Beibehaltung der gewählten Gruppeneinteilung (Tab. 1), in Anlehnung an das NEILL'sche Versuchs-

modell, jedoch mit geringeren Dosen Östradiol und Progesteron und bei kürzerer Applikationsdauer, durchgeführt werden.
Ferner könnte an normalen männlichen und weiblichen Ratten verschiedener Altersstufen die Frage untersucht werden, ob die unterschiedliche Gewebsentwicklung auf eine geschlechtsspezifische Bindungskapazität von Prolactin-Molekülen am Rezeptor zurückzuführen ist.

Abschließend noch einige Bemerkungen, die auf die Bedeutung der Untersuchung Bezug nehmen.
Eine genaue Kenntnis der Milchdrüsendifferenzierung und der Regulation der Milchdrüsenfunktion ist heute unerläßlich, weil das Auftreten von Milchdrüsentumoren bei Ratten, Mäusen und Hunden nach Langzeitbehandlung mit Sexualhormonen in letzter Zeit immer mehr Interesse beansprucht.
Die Genese der östrogeninduzierten Milchdrüsentumoren der Ratte muß im Zusammenhang mit den endokrinen Regulationsmechanismen dieser Spezies gesehen werden. Es sind nicht Östrogene selbst, die etwa durch direkte Einwirkung auf die Milchdrüse bei Ratten Tumoren auslösen, sondern es ist mit größter Sicherheit PROLACTIN (NEUMANN und ELGER 1970).
Da für die Genese der Milchdrüsentumoren bei Ratten und Mäusen die spezifischen endokrinen Regelmechanismen bei diesen Tierarten von ausschlaggebender Bedeutung sind, muß ihr Funktionsprinzip eindeutig geklärt werden.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Untersucht wurde an Ratten die kausale Genese der geschlechtsunterschiedlichen PROLACTIN-Sekretion.

Männliche und weibliche Ratten wurden bei einem Gewicht von 80 bis 100 g gonadektomiert.
Den Tieren, die eine Woche später hypophysektomiert wurden, transplantierte man dann je zwei Hypophysen von 30 bis 40 g schweren männlichen bzw. weiblichen Spender-Ratten unter die Nierenkapseln. Anschließend erfolgte eine Stimulierung der hypophysären PROLACTIN-Sekretion durch eine Kombinationsbehandlung von Östradiol und Progesteron über 22 Tage (Induktion einer Pseudogravidität).
Dieselbe Behandlung erfuhren männliche und weibliche Kontrolltiere.
Das Ausmaß der erfolgten Stimulierung wurde gemessen an der Wirkung des PROLACTINS auf das periphere Erfolgsorgan, die Milchdrüse. Der Grad der Milchdrüsengewebsentwicklung wurde in vierfacher Weise ausgewertet:

- Milchdrüsengewicht
- Whole Mount Preparation
- Milchdrüsen-Histologie
- DNA-Bestimmung

Ferner wurde der PROLACTIN-Gehalt im Serum radioimmunologisch (Double Antibody Method) bestimmt.

Die vorliegenden Ergebnisse konnten weder als eine Bestätigung der 1971 von NEUMANN et al. aufgestellten Hypothese (Abb.2), noch als eine Bestätigung der dem Experiment zu Grunde liegenden Vermutung

interpretiert werden, nach der die klar erkennbaren Unterschiede in der Milchdrüsendifferenzierung zwischen männlichen und weiblichen Ratten bei gleicher Östradiol-Progesteron-Behandlung ausschließlich auf eine bei männlichen und weiblichen Individuen unterschiedlich reagierende Hypophyse zurückgeführt werden sollten.

Die Untersuchungsergebnisse bestätigen die Befunde von MEITES und NICOLL (1966) und KANEMATSU und SAWYER (1963), die durch ihre in-vitro-Versuche zeigen konnten, daß eine Direktwirkung des Östradiols auf die Hypophyse ohne Zwischenschaltung des Hypothalamus vorliegt. Die Hypophysen männlicher und weiblicher Ratten zeigten nach Substitution von Östradiol und Progesteron die gleiche Reaktion.

Die vorliegenden Befunde weisen darauf hin, daß das Milchdrüsengewebe per se Geschlechtsunterschiede auf der Basis der Hormon-Rezeptoren für PROLACTIN aufweist. Es ist denkbar, daß in der Reifungsphase unter Einfluß von Sexualhormonen die Bildung spezifischer geschlechtsunterschiedlicher PROLACTIN-Rezeptoren stattfindet. Auf Grund der Untersuchungen von NEILL (1972), denen ein anderes Versuchsmodell zugrunde liegt, darf die Möglichkeit jedoch nicht ausgeschlossen werden, daß der Hypothalamus doch über den 'prolactin-inhibiting-factor' die PROLACTIN-Ausschüttung geschlechtsspezifisch regulierend beeinflußt.

Möglicherweise sind Geschlechtsunterschiede im Mammagewebe und in der Regulation der PROLACTIN-Sekretion für die zu beobachtende sexualspezifische Reaktion des untersuchten Zielorgans - der Milchdrüse - verantwortlich.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

1. AHREN K., 1959 a. - Effect of insulin on body growth and mammary gland development in force-fed hypophysectomized rats injected with ovarian hormones. Acta endocr. (Kbh.) 30 593

2. AHREN K. - 1959 b. - The effect of various doses of estrone and progesterone on the mammary gland of castrated hypophysectomized rats injected with insulin. Acta endocr. (Kbh.) 28 435

3. AHREN K. und M. ETIENNE - 1958 - Stimulation of mammary glands in hypophysectomized male rats treated with ovarian hormones and insulin. Acta endocr. (Kbh.) 28 89

4. AHREN K. und M. ETIENNE - 1959 - The effect of testosterone alone and combined with insulin on the mammary glands of castrated and hypophysectomized rats. Acta endocr. (Kbh.) 30 109

5. AHREN K. und D. JACOBSOHN - 1956 a. - Mammary gland growth in hypophysectomized rats injected with ovarian hormones and insulin. Acta physiol.scand. 37 190

6. AHREN K. und D. JACOBSOHN - 1956 b. - Recherches récentes sur l'action de l'insuline et de la cortisone sur la glande mammaire de jeunes rats hypophyséctomisés. Ann.Endocr. (Paris) 17 547

7. ARIMURA A., A. SCHALLY, E.E. MÜLLER, C.Y. BOWERS, S.SAWANO und T.SAITO - 1967 - Absence of prolactin-release inhibiting activity in highly purified LH-releasing factor. Endocrinology 80 972

8. ASCHHEIM S. und B.ZONDEK - 1927 - Das Hormon des Hypophysenvorderlappens. Klin.Wschr.Nr. 6 248

9. BARNES B.G. - 1963 - Cytology de l'Adenohypophyse. Ed.Centre Natl.Rech.Sci.Paris, 91-103

10. BARRACLOUGH C.A. und J.H.LEATHEM - 1954 - Infertility induced in mice by a single injection of testosterone propionate. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 85 673

11. BARRACLOUGH C.A. - 1961 - Production of anovulatory, sterile rats by single injections of testosterone propionate. Endocrinology 68 62

12. BARRACLOUGH C.A. und R.A.GORSKI - 1961 - Evidence that the hypothalamus is responsible for androgen-induced sterility in the female rat. Endocrinology 68 68

13. BARRACLOUGH C.A. und R.A. GORSKI - 1962 - Studies on mating behaviour in the androgen-sterilized female rat in relation to the hypothalamic regulation of sexual behaviour. J.Endocr. 25 175

14. BARRNETT R.J., W.D.ROTH und J.SAIZER - 1961 - The histochemical demonstration of the sites of luteotropic hormone in the rat pituitary gland. Endocrinology 69 1047

15. BATES R.W., R.A.MILLER und M.M.GARRISON - 1962 - Evidence in the hypophysectomized pigeon of a synergism among prolactin, growth hormone, thyroxine and prednisone upon weight of the body, digestive tract, kidney and fat stores. Endocrinology 71 345

16. BEIER S. - 1973 - Untersuchungen an Ratten über den positiven Rückkoppelungs-Mechanismus zwischen Östrogenen und Prolactin. Diplomarbeit am Fachbereich Biologie (FB 23) der Freien Universität Berlin (1973)

17. BEN-DAVID M., S.DIKSTEIN und F.G.SULMAN - 1964 - Effect of different steroids on prolactin secretion in pituitary-hypothalamo organ co-culture. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 117 511

18. BENGMARK S. und R.HESSELSJO - 1963 - The combined effect of prolactin and androsterone on the growth of rat seminal vesicle in vitro. Urol.Internat. (Basel) 16 387

19. BENGMARK S. und R.HESSELSJO - 1964 - Endocrine dependence of rat seminal vesicle tissue in tissue culture. Urol.Internat.(Basel) 17 84

20. BENOIT J. und C.DALAGE - 1963 - Cytology de l'Adenohypophyse. Ed.Centre Natl.Rech.Sci.Paris 434

21. BENSON G.K., A.T.COWIE, S.J.FOLLEY und J.S.TINDALL - 1959 - Recent developments in endocrine studies on mammary growth and lactation. In: C.W.LLOYD (ed.), Recent progress in the endocrinology of reproduction, p.457, New York and London, Academic Press

22. BENSON G.K., A.T.COWIE, C.P.COX, D.S.FLUX and S.J.FOLLEY - 1955 - Studies on the hormonal induction of mammary growth and lactation in the goat. II. Functional and morphological studies of hormonally developed udders with special reference to the effect of triggering doses of oestrogen. J.Endocr. 13 46

23. BENSON K.G., A.T.COWIE, C.P.COX und S.A.GOLDZVEIG - 1957 - Effects of estrone and progesterone on mammary gland development in the guinea-pig. J.Endocr. 15 126

24. BERGER B. - 1971 - Zur hormonalen Prägung von hypothalamischen Zentren, die die Prolactinsekretion kontrollieren (Untersuchungen an Ratten unter spezieller Berücksichtigung des Zeitfaktors). Dissertation - SCHERING AG/BERLIN

25. CHOWERS I. und S.M.McCANN - 1967 - Comparison of the effect of hypothalamic and pituitary implants of estrogen, testosterone on reproductive system and adrenal of female rats. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 124 260

26. COLE R.D., I.I.GESCHWIND und C.H.LI - 1957 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.Biol.Chem. 224 399

27. COWIE A.T. - 1949 - The relative growth of the mammary gland in normal, gonadectomized and adrenalectomized rats. J.Endocr. 6 145

28. COWIE A.T. und W.R.LYONS - 1959 - Mammogenesis and lactogenesis in hypophysectomized, adrenalectomized, ovarectomized rats. J.Endocr. 19 29

29. COWIE A.T. und S.J.FOLLEY - 1961 - The mammary gland and lactation. In: W.C.YOUNG (ed.) Sex and internal secretions, p. 590. Baltimore: Williams and Wilkins

30. CROOKE A.C. und J.R. GILMOUR - 1938 - A description of the effect of hypophysectomy on the growing rat, with the resulting histological changes in the adrenal and thyroid glands and the testicles. J.Path.Bact. 47 525

31. DANTCHAKOFF V. - 1938 a. - Roles des hormones dans la manifestation des instincts sexuels. C.R.Acad. Sci.(Paris) 206 945

32. DANTCHAKOFF V. - 1938 b. - Sur les effects de l'hormone male dans une jeune cobaye femelle traite depais un stade embryonnaire (inversions sexuelles). C.R.Soc.Biol.(Paris) 127 1255

33. DAO T.D. und D.GAWLAK - 1963 - Direct mammotrophic effect of a pituitary homograft in rats. Endocrinology 72 884

34. DEANE H.W. und R.O.GREEP - 1946 - A morphological and histochemical study of the rats adrenal cortex after hypophysectomy, with comments on the liver. Amer.J.Anat. 79 117

35. DESCLIN J.Jr. - 1963 - In: Compt.Rend.Acad.Sci. 257 3042 zitiert nach: MEITES und NICOLL 1966

36. DESCLIN L. - 1963 - Cytology de l'Adenohypophyse. Ed.Centre Nat.Rech.Sci.Paris 287-300

37. DE VOE W.F., V.D.RAMIREZ und S.M.McCANN - 1966 - Induction of mammary secretion by hypothalamic lesions in male rats. Endocrinology 78 158

38. DHARIVAL A.P.S., C.E.GROSVENOR, J.ANTUNES-RODRIGUES und S.M.McCANN - 1968 - Studies on the purification of ovine prolactin-inhibiting-factor. Endocrinology 82 1236

39. DÖRNER G. und F.DÖCKE - 1964 - A sex-specific reaction of the hypothalamo-hypophysial system of rats. J.Endocr. 30 265

40. EHRHARDT K., WIESBACHER und FOSCANEANU - 1929 - Hypophysenvorderlappenimplantation bei Rhesusaffen. Endocrinology

41. EMMART E.W., R.W. BATES, W.A.TURNER - 1965 - Localization of prolactin in rat pituitary and in a transplantable mammotropic pituitary tumor using fluorescent antibody. J.Histochem.Cytochem. 13 182

42. EMMART E.W., S.S.SPICER und R.W.BATES - 1963 - Localization of prolactin within the pituitary by specific fluorescent antiprolactin globulin. J.Histochem.Cytochem. 3 365

43. EVERETT J.W. - 1954 - Luteotropic function of autografts of the rat hypophysis. Endocrinology 54 685

44. EVERETT J.W. - 1956 - Functional corpora lutea maintained for months by autografts of rat hypophyses. Endocrinology 58 786

45. EVERETT J.W. - 1964 - Central neural control of reproductive function of the adenohypophysis. Physiol. Rev. 44 373

46. EVERETT J.W., C.H.SAWYER und J.E. MARKEE - 1949 - A neurogenic timing factor in control of the ovulating discharge of luteinizing hormone in the cyclic rat. Endocrinology 44 234

47. FARQUAR M.G. und J.F.RINEHART - 1954 - Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrated rats. Endocrinology 54 516

48. FLERKO B. und J.SZENTAGOTHAI - 1957 - Oestrogen sensitive nervous structures in the hypothalamus. Acta Endocr. 26 121

49. FLUX D.S. - 1957 - The growth-stimulating effect of growth hormone and L-Thyroxine on the mammary glands and uterus of the mouse. J.Endocr. 15 266

50. FLUX D.S. - 1958 - Mammary gland growth in the male mice of the CHI strain after hypophysectomy and castration. J.Endocr. 17 300

51. FREUD J. und S.E. DE JONGH - 1935 - The effect of progestin upon the mammary gland of the rat. Acta brev. neerl.Physiol. 5 47

52. GARDNER W.U. und A.WHITE - 1941 - Mammary growth in hypophysectomized male mice receiving estrogen and prolactin. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 48 590

53. GARDNER W.U. und A.WHITE - 1942 - Mammary growth in hypophysectomized male mice. Anat.Rec. 82 414

54. GIROD C. - 1962 - Identification expérimentale de cellules E, source de prolactine, dans l'antéhypophyse du Sing Macacus sylvanus L.; Compt.Rend. Soc.Biol. 156 845

55. GIROD C. - 1964 - Etude éxpérimentale des cellules à prolactine de la pars distalis de l'hypophyse chez les Singe Macacus irus F.; Compt.Rend. Acad.Sci. 258 5079

56. GOMEZ E.T. - 1942 - Mammary gland in hypophysectomized castrated guinea pigs. Endocrinology 31 613

57. GOMEZ E.T. und C.W.TURNER - 1936 - Effect of hypophysectomy and replacement therapy on lactation in guinea pigs. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 34 404

58. GOMEZ E.T. und C.W.TURNER - 1937 - Hypophysectomy and replacement therapy in relation to the growth and secretion of the mammary gland. Mo.Agric.Exp.Sta. Res.Bull. 259

59. GOMEZ E.T. und C.W.TURNER; W.U.GARDNER und R.T.HILL - 1937 - Oestrogenic treatment of hypophysectomized male mice. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 36 287

60. GORSKI R.A. und C.A.BARRACLOUGH - 1963 - Effects of low dosages of androgen on the differentiation of hypothalamic regulatory control of ovulation in the rat. Endocrinology 73 210

61. GORSKI R.A. und J.W.WAGNER - 1965 - Gonadal activity and sexual differentiation of the hypothalamus. Endocrinology 76 226

62. GREENBAUM A.L. und F.G.GREENWOOD - 1954 - Some enzymic changes in the mammary gland of rats during pregnancy, lactation and mammary involution. Biochem. J. 56 62

63. GRIFFITH D.R. und C.W.TURNER - 1957 - Desoxyribonucleic acid (DNA) content of mammary gland during pregnancy and lactation. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 95 347

64. GROSVENOR C.E., F.MENA, A.P.S.DHARIVAL und S.M.McCANN - 1967 - Reduction of milk secretion by prolactin-inhibiting-factor; further evidence that exteroceptive stimuli can release pituitary prolactin in rats. Endocrinology 81 1021

65. GROSVENOR C.E., S.M.McCANN und R.NALLAR - 1965 - Inhibition of nursing-induced and stress-induced fall in pituitary prolactin concentration in lactating rats by injections of acid extracts of bovine hypothalamus. Endocrinology 76 883

66. GROSVENOR C.E., F.MENA und D.SCHAEFGEN - 1967 - Effect of nonsuckling interval and duration of suckling on the suckling-induced fall in pituitary prolactin concentration in the rat. Endocrinology 81 449

67. GROSVENOR C.E. und C.W.TURNER - 1958 - Assay of Lactogenic Hormone. Endocrinology 63 530

68. HADFIELD G. und J.S.YOUNG - 1956 - The mammotrophic potency of human urine. Brit.J.Cancer 10 145

69. HAHN D.W. und C.W.TURNER - 1966 - Effect of oestrogen and progesterone on mammary gland DNA and feed intake in hypophysectomized female rats. Proc. Soc.exp.Biol.(N.Y.) 122 183

70. HARAN-GHERA - 1966 - Persönliche Mitteilung an MEITES, zitiert nach MEITES und NICOLL 1966

71. HARKNESS M.L.R. und R.D.HARKNESS - 1956 - The effect of pregnancy and lactation on the collagen content of the mammary gland of the rat. J.Physiol.(Lond.) 132 476

72. HARRIS G.W. - 1963 - Castration of the new born male rat and lack of sexual differentiation of the brain. J.Physiol.(Lond.) 169 117

73. HARRIS G.W. - 1964 - Sex hormones, brain development and brain function. Endocrinology 75 627

74. HARRIS G.W. und S.LEVINE - 1962 - Sexual differentiation of the brain and its experimental control. J.Physiol.(Lond.) 163 42

75. HASSELBACH Chr.v. - 1970 - Untersuchungen an Ratten über die Bedeutung der perinatalen Androgene für die Differenzierung der hypothalamischen Kerngebiete, welche die hypophysäre Prolactin-Sekretion regulieren. Dissertation - SCHERING AG/BERLIN

76. HÖHN E.O. - 1957 - The effect of oestrone on the mammary gland of adrenalectomized guinea-pigs. J.Endocr. 16 227

77. HUXLEY J.S. und G.TEISSIER - 1936 - Terminology of relative growth. Nature 137 780

78. HYMER W.C., W.H. McSHANN und R.G.CHRISTIANSEN - 1961 - Electron microscopic studies of the anterior pituitary glands from lactating and oestrogen-treated rats. Endocrinology 69 81

79. JACOBSOHN D. - 1958 - Mammary gland growth in relation to hormones with metabolic actions. Proc.roy.Soc. B 149 325

80. KANEMATSU S., J.HILLIARD und C.H.SAWYER - 1963 - Effect of reserpine on pituitary prolaction content and its hypothalamic site of action in the rabbit. Acta Endocr. 44 467

81. KANEMATSU S. und C.H.SAWYER - 1963 - Effect of intrahypothalamic and intrahypophysial estrogen implants on pituitary prolactin and lactation in the rabbit. Endocrinology 72 243

82. KINCL F.A., A.FOLCH, M.MAQUEO, L.HERRERA LASSO, A.ORIOL und R.I.DORFMAN - 1965 - Inhibition of sexual development in male and female rats treated with various steroids at the age of five days. Acta Endocr. 49 193

83. KIRKHAM W.R. und C.W.TURNER - 1953 - Nucleic acids of the mammary glands of rats. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 83 123

84. KIRKHAM W.R. und C.W.TURNER - 1954 - Induction of mammary growth in rats by estrogen and progesterone. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 87 139

85. KOBAYASHI T., TAKURO KOBAYASHI, T.KIGAWA, M.MIZUNO und Y. AMENOMORI - 1963 - Prolactin secretion of rat anterior pituitary cultivated in vitro. Endocrinology Japon. 10 199

86. KOZIOROWSKA J. - 1962 - Influence of hormones on mouse mammary glands cultured in vitro. Acta Unio Internat. Contra Cancrum 18 211

87. KUMARESAN P. und C.W. TURNER - 1965 - Effect of growth hormone and thyroxine on mammary gland growth in the rat. J.Dairy Sci. 48 592

88. KUMARESAN P. und C.W.TURNER - 1965 - Effect of insuline and alloxan on mammary gland growth in rats. J.Dairy Sci. 48 1378

89. KUMARESAN P. und C.W.TURNER - 1966 - Effect of neonatal administration of testosterone propionate upon mammary gland growth in female rats. Endocrinology 79 443

90. KURMARESAN P. und C.W.TURNER - 1967 - Effect of various hormones on mammary gland growth of ovarectomized rats. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 125 556

91. KUROSHIMA A., A.ARIMURA, C.Y.BOWERS und V.A.SCHALLY - 1966 - Inhibition by pig hypothalamic extracts of depletion of pituitary prolactin in rats following cervical stimulation. Endocrinology 78 216

92. KURCZ M., K.KOVACS, T.TOBOLDI und A.OROSZ - 1967 - Effect of androgenisation on adenohypophysial prolactin content in rats. Acta Endocr. 54 663

93. KURCZ M. - 1965 - Specificity of the Micro-Test of the Pigeon's Crop-Sac for Prolactin Determination. Ann.Univ.Sci.Budapest, Sectio Biol.8 149

94. LEONARD S.L. und R.P.REECE - 1945 - Failure of steroid hormone to induce mammary growth in hypophysectomized rats. Endocrinology 30 32

95. LI C.H. - 1952 - Recent studies on the problems involved the preparation, properties and bioassay of adrenocorticotrophic hormone. Acta endocr.Paris 10 255

96. LI C.H. - 1957 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol.Chem. 229 157

97. LI C.H. und J.T.CUMMINS - 1958- Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol.Chem. 233 73

98. LI C.H. und H.M.EVANS - 1958 - in: The Hormones, vol.I., p.631, Academic Press N.Y.

99. LI C.H., I.I.GESCHWIND, A.L.LEVY, J.I.HARRIS, J.S.DIXON, N.G.DON und J.O.PORATH - 1954 - Isolation and properties of alpha-corticotropin from sheep pituitary glands. Nature 173 251

100. LI C.H., W.R.LYONS und H.M.EVANS - 1941 - Studies on pituitary lactogenic hormone.J.biol.Chem. 140 43

101. LI C.H., M.E.SIMPSON und H.M.EVANS - 1942 - Studies on pituitary lactogenic hormone. J.biol.Chem. 146 627

102. LYONS W.R. - 1943 - Lobulo-alveolar mammary growth induced in hypophysectomized rats by injections of hypophysial and ovarian hormones; in: Essays in biology, p. 317. Berkeley: California University Press.

103. LYONS W.R. - 1950 - Lobulo-alveolar mammary growth in the rat. In: Méchanisme physiologique de la sécrétion lactée. Coll.Int.du C.N.R.S.(Strasbourg), p.29

104. LYONS W.R. - 1958 - Hormonal synergism in mammary growth. Proc.Soc.roy.Biol. 149 303

105. LYONS W.R. und H.R.CATCHPOLE - 1933 - Essay with an guinea-pig of the lactogenic hypophysial hormone. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 31 299

106. LYONS W.R. und R.E.JOHNSON - 1952 - Embedding stained mammary glands in plastic. Stain.Technol. 28 201

107. LYONS W.R., C.H.LI, R.D.COLE und R.E.JOHNSON - 1953 - Some of the hormones required by the mammary gland in its development and function. J.clin.Endocr.13 836

108. LYONS W.R., C.H.LI und R.E.JOHNSON - 1956 - Direct action of mammary-stimulating hormones. J.clin.Endocr. 16 967

109. LYONS W.R., C.H.LI und R.E.JOHNSON - 1958 - The hormonal control of mammary growth and lactation. Recent Progr.Hormone Res. 14 219

110. LYONS W.R. und R.I.PENCHARZ - 1936 - Reactions of mammary glands of normal and hypophysectomized male guinea-pigs to female sex hormone. Proc. Soc.exp.Biol.(N.Y.) 33 589

111. LYONS W.R., M.E.SIMPSON und H.M.EVANS - 1942 - Lobulo-alveolar mammary growth in hypophysectomized rats. Anat.Rec. 82 430

112. LYONS W.R., M.E.SIMPSON und H.M.EVANS - 1943 - Hormonal requirement for pregnancy and mammary development in hypophysectomized rats. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 52 134

113. MAYER G. und M.KLEIN - 1948 - Physiologie de la lactation: I. Les facteurs du développement morphologique du parenchyme mammaire. Ann.Nutr.(Paris) 2 113

114. MAYER G. und M.KLEIN - 1960 - Histology and Cytology of the mammary gland. In: S.K.KON und A.T.COWIE (eds.) New York: Academic Press.
Milk: The mammary gland and its secretion, chapt. 2

115. McCANN S.M. und H.M.FRIEDMAN - 1960 - The effect of hypothalamic lesions on the secretion of luteotrophin. Endocrinology 67 597

116. MEITES J. - 1954 - Recent studies on the mechanism controlling the initiation of lactation. Rev.canad. Biol. 13 359

117. MEITES J. und C.S.NICOLL - 1966 - Adenohypophysis: Prolactin. Annual Review of Physiology 28 57

118. MEITES J. und J.T.SGOURIS - 1953 - Can the ovarian hormones inhibit the mammary response to prolactin? Endocrinology 53 17

119. MEITES J. und C.W.TURNER - 1942 - Effects of estrone on lactogen content in pituitary and blood of male rabbits. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 49 190

120. MEITES J. und C.W.TURNER - 1950 - In: Hormone Assay 237-260 (Emmens,C.W., ed.Academic Press N.Y.)

121. MINAGUCHI H., J.A.CLEMENS und J.MEITES - 1968 - Changes in pituitary prolactin levels in rats from weaning to adulthood. Endocrinology 82 555

122. MINAGUCHI H. und J.MEITES - 1967 - Effects of suckling on hypothalamic LH-releasing-factor and Prolactin-inhibiting-factor and on pituitary LH and Prolactin. Endocrinology 80 603

123. MIRSKY A.E. und H.RIS - 1949 - Variable and constant components of chromosomes. Nature (Lond.) 163 666

124. MISHKINSKY J., Z.K.LAJTOS und F.G.SULMAN - 1966 - Initiation of lactation by hypothalamic implantation of perphenazine. Endocrinology 78 919

125. MITTLER J.C. und J.MEITES - 1964 - In vitro stimulation of pituitary follicle-stimulating-hormone release by hypothalamic extract. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 117 309

126. MIXNER J.P. und C.W.TURNER - 1942 - Role of estrogen in the stimulation of mammary lobule-alveolar growth by progesterone and by the mammogenic lobule-alveolar growth factor of the anterior pituitary. Endocrinology 30 591

127. MIXNER J.P. und C.W.TURNER - 1942 - Influence of thyroxine upon mammary lobule-alveolar growth. Endocrinology 31 345

128. MIXNER J.P. und C.W.TURNER - 1943 - The mammogenic hormones of the anterior pituitary. II. The lobule-alveolar growth factor. Mo.Agr.Exp.Sta.Res.Bull. 378

129. MIZUNO H., K.IIDA und M.NAITO - 1955 - The role of prolactin in the mammary alveolus formation. Endocr.Japon. 2 163

130. MOON R.C. - 1962 - Influence of graded thyroxine levels on mammary gland growth. Amer.J.Physiol. 203 942

131. MOON R.C., D.R.GRIFFITH und C.W.TURNER - 1959 - Normal and experimental growth of rat mammary gland. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 101 788

132. MUNFORD R.E. - 1964 - A review of anatomical and biochemical changes in the mammary gland with particular reference to quantitative methods of assessing mammary development. J.Dairy Sci.Abstr. 26 293

133. MUNFORD R.E. - 1963 - Changes in the mammary glands of rats and mice during pregnancy, lactation and involution. III. Relation of structural and biochemical changes. J.Endocr. 28 35

134. MYERS J.A. - 1917 - Studies on the mammary gland. II. The fetal development of the mammary gland in the female albino rat. Amer.J.Anat. 22 195

135. MYERS J.A. - 1916 - Studies on the mammary gland. I. The growth and distribution of the milk-ducts and the development of the nipple in the albino rat from birth to ten weeks of age. Amer.J.Anat. 19 353

136. MYERS J.A. - 1917 - Studies on the mammary gland. III. A comparison of the developing mammary glands in male and female albino rats from the late fetal stages to ten weeks of age. Anat.Rec. 13 205

137. MYERS J.A. - 1919 - Studies on the mammary gland. IV. The histology on the mammary gland in male and female albino rats from birth to ten weeks of age. Amer.J.Anat. 25 395

138. MYERS J.A. - 1919 - Studies on the mammary gland. V. The effects of inanition on the developing mammary glands in male and female albino rats from birth to ten weeks of age. Anat.Rec. 16 159

139. NATHANSON I.T.; D.T.SHAW und C.C.FRANSEEN - 1939 - Effect of simultaneous administration of growth complex and estradiol on mammary gland of hypophysectomized rat. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 42 652

140. NEILL J.D. - 1972 - Sexual differences in the hypothalamic regulation of Prolactin secretion. Endocrinology 90 1154

141. NELSON W.O. - 1935 - Gonad hormone effects in normal, spayed and hypophysectomized rats. Anat.Rec. (Suppl. 1) 64 52

142. NELSON W.O. - 1950 - Interrelations of steroid and hypophysial hormones and their effects on the mammary glands. In: Méchanisme physiologique de la sécrétion lactée. Coll.Int.du C.N.R.S. (Strasbourg) p. 19.

143. NELSON W.O. - 1952 - Hypophysial and ovarian hormones in the regulation of the mammary glands. Ciba Found. 4 402

144. NEUMANN F. und W.ELGER - 1965 - Physiological and psychical intersexuality of male rats by early treatment with an antiandrogenic agent. Acta Endocr.(Suppl.) 100 174, Abstract No. 142.

145. NEUMANN F. und W.ELGER - 1967 - Steroidal stimulation of mammary glands in prenatally feminized male rats. Euro.J.of Pharmacology 1 120

146. NEUMANN F. und W.ELGER - 1970 - Methodik der Steroidtoxikologie. Arbeitstagung in Bonn 1970. "Kritische Überlegungen zu den biologischen Grundlagen von Toxizitätsstudien mit Steroid-(Sexual-) hormonen." Georg Thieme Verlag Stuttgart, 1971.

147. NEUMANN F., W.ELGER und R.v.BERSWORDT-WALLRABE - 1967 - Intersexualität männlicher Feten und Hemmung androgenabhängiger Funktonen bei erwachsenen Tieren durch Testosteronblocker. Dtsch.med. Wschr. 92 360

148. NEUMANN F., W.ELGER und H.STEINBECK - 1971 - Die Bedeutung der Androgene für die "Prägung des Gehirns" J.of Neuro-Visceral Relations, Suppl. X, p. 296-309

149. NEUMANN F., J.D.HAHN und M.KRAMER - 1967 - Hemmung von testosteronabhängigen Differenzierungsvorgängen der männlichen Ratte nach der Geburt. Acta Endocr. 54 227

150. NICOLL C.S. und J.MEITES - 1962 - Estrogen stimulation of prolactin production by rat adenohypophysis in vitro. Endocrinology 70 272

151. NICOLL C.S. und J.MEITES - 1964 - Prolactin secretion in vitro: Effects of gonadal and adrenal cortical steroids. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 117 579

152. NIKITOVITCH-WINER M.B. - 1965 - Effect of hypophysial stalk transection on luteotropic hormone secretion in the rat. Endocrinology 77 658

153. OLIVEREAU M. - 1963 - Cytologie de l'Adenohypophyse. Ed.Centre Nat.Rech.Sci.(Paris) 315-329

154. PASTEELS J.L. - 1963 - In: Colloques Int.ctr.nat.rech. sci. 128-137

155. PETERSEN W.G., C.B.KNODT, T.M.LUDWICK und B.S.POMEROY - 1944 - Mammary development in the thyroprived bovine by stilbestrol and thyroprotein administration. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 57 332

156. PHOENIX C.H., R.W. COY , A.A.GERALL und W.C.YOUNG - 1959 - Organizing action of prenatally administered testosterone propionate on the tissues mediating mating behaviour in the female guinea-pig. Endocrinology 65 369

157. PURVES H.D. - 1961 - Sex and Internal Secretions 1, 161. YOUNG W.C., Ed., Williams and Wilkins, Baltimore.

158. RAMIREZ V.D. und S.M.McCANN - 1964 - Induction of prolactin secretion by implants of oestrogen into the hypothalamo-hypophysial region of female rats. Endocrinology 75 206

159. RATNER A. und J.MEITES - 1964 - Depletion of prolactin inhibiting activity of rat hypothalamus by estradiol or suckling stimulus. Endocrinology 75 377

160. RATNER A., P.K.TALWALKER und J.MEITES - 1963 - Effect of estrogen administration in vivo on prolactin release by rat pituitary in vitro. Proc.Soc. exp.Biol.(N.Y.) 112 12

161. REECE R.P. - 1958 - Mammary gland development and function. In: J.T.VELARDO (ed.), The endocrinology of reproduction, p. 213. New York and Oxford: University Press.

162. REECE R.P., J.W.BARTLETT, I.L.HATHAWAY und H.P.DAVIS - 1940 - Hormonal inhibition of lactation. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 43 183

163. REECE R.P. und J.A.BIVINS - 1942 - Progesterone effect on pituitary lactogen content and on mammary glands of ovary-ectomized rats. Proc.Soc.exp. Biol.(N.Y.) 49 582

164. REECE R.P. und J.H.LEATHEM - 1945 - Growth of mammary glands of hypophysectomized rats following estrogen and lactogen administration. Proc.Soc.exp. Biol.(N.Y.) 59 122

165. REECE R.P. und S.L.LEONARD - 1939 - Further evidence for a mammogenic factor in the rat hypophysis. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 42 200-202

166. REECE R.P. und S.L.LEONARD - 1941 - Effect of oestrogens, gonadotropins and growth hormone on mammary glands of hypophysectomized rats. Endocrinology 29 297-305

167. REECE R.P. und S.L.LEONARD - 1942 - Lobule-alveolar growth of mammary glands of hypophysectomized female rats. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 49 660-662

168. REECE R.P., C.W.TURNER und R.T.HILL - 1936 - Mammary gland development in the hypophysectomized albino rat. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 34 204

169. RENNELS E.G. - 1962 - An electron microscope study of pituitary autograft cell in the rat. Endocrinology 71 713

170. RENNELS E.G., D.M.ANIGSTEIN und L.ANIGSTEIN - 1961 - In: Texas Rept.Biol.Med. 19 159, zitiert nach MEITES und NICOLL 1966

171. RIDDLE O. und R.W.BATES - 1939 - The preparation, assay and actions of lactogenic hormone. In: E.ALLEN, Sex and Internal Secretions.2.Aufl. Baltimore, Williams and Wilkins Co.

172. RIDDLE O., R.W.BATES und S.W.DYKSHORN - 1933 - The preparation, identification and assay of prolactin - a hormone of the anterior pituitary. Amer.J.Physiol. 105 191

173. RIESER U., U.SCHULZ und F.NEUMANN - 1970 - Ursachen der geschlechtsunterschiedlichen Milchdrüsenentwicklung bei Ratten. Experientia (Basel) 26 1148

174. ROBBOY S.J. und R.H.KAHN - 1966 - Zone electrophoresis and prolactin activity of rat adenohypophysis cultivated in vitro. Endocrinology 78 440

175. ROTHCHILD I. und R.DICKEY -1960 - The corpus luteum - pituitary relationship: a study of the compensatory hypertrophy of the ovary during pseudopregnancy and lactation in the rat. Endocrinology 67 42

176. RUINEN F.H. - 1932 - Über den Angriffspunkt der Mammawirkung von Menformon. Acta brev.neerl.Physiol. 2 161

177. SAR M. und J.MEITES - 1967 - Changes in pituitary prolactin release and hypothalamic PIF-content during the estrous cycle of rats. Proc.Soc.exp. Biol.(N.Y.) 125 1018

178. SAR M. und J.MEITES - 1968 - Effects of progesterone, testosterone and cortisol on hypothalamic PIF and pituitary prolactin content. Proc.Soc.exp. Biol. (N.Y.) 127 426

179. SARASON E.L. - 1943 - Morphologic changes in the rats adrenal cortex under various experimental conditions. Arch.Path. 35 373

180. SAWYER C.H., C.K.HAHN, J.HILLIARD, H.M.RADFORD und S.KANEMATSU - 1963 - Further evidence for the identity of hypothalamic areas controlling ovulation and lactation in the rabbit. Endocrinology 73 338

181. SILVER M. - 1953 a. - A quantitative analysis of the role of oestrogen in mammary development in the rat. J.Endocr. 10 17

182. SILVER M. - 1953 b. - The onset of allometric mammary growth in the hooded norway rat. J.Endocr. 10 35

183. SINHA Y.N. und H.A.TUCKER - 1966 - Mammary gland growth of rats between ten and hundred days of age. Amer.J.Physiol. 210 601

184. SIMPSON M.E., H.M.EVANS und C.H.LI - 1943 - Bioassay of adrenocorticotropic hormone. Endocrinology 33 261

185. SMELSER G.K. - 1933 - The response of guinea-pig mammary glands to injected sex hormones and ovarian grafts and its bearing on the problem of sex hormone antagonism. Physiol.Zool. 6 396

186. SMITH P.E. - 1927 - The disabilities caused by hypophysectomy and their repair. J.Amer.med.Ass.88 158

187. SMITH P.E. - 1930 - Hypophysectomy and a replacement therapy in the rat. Amer.J.Anat. 45 205

188. SMITHCORS J.F. und S.L.LEONARD - 1942 - Relation of thyroid to mammary gland structure in the rat with special reference to the male. Endocrinology 31 454

189. STEINBECK H. - 1969 - Die Wirkung der verschiedenen Gestagene auf Morphologie und Funktion der Milchdrüse. In: Die Gestagene, Teil II.; Handbuch der exp. Pharmakologie XXII./2; Herausgeber: K.JUNKMANN: Springer Verlag Berlin-Heidelberg-New York.

190. STRICKER P. und F.GRUETER - 1928 - Action du lobe antérieur de l'hypophyse sur la montée laiteuse. C.R.Soc.Biol(Paris) 99 1978

191. STRICKER P. und F.GRUETER - 1929 - Recherches expérimentales sur les fonctions du lobe antérieur de l'hypophyse: influence des extraits du lobe antérieur sur l'appareil génital de la lapine et sur la montée laiteuse. Presse med. 37 1268

192. SULMAN F.G., M.BEN-DAVID, A.DAWON, S.DIKSTEIN, N.KHAZAN, J.MISHKINSKY und V.ZOR - 1963/64 - Studies on hypothalamic lactation. Investigation into the mechanism of lactation its augmentation by hypothalamic stimulation. In: Research, Report 1963/64, The Hebrew University of Jerusalem, Israel

193. SWANSON H.E. und J.J. von der WERFF ten BOSCH - 1964 - The "early-androgen" syndrome; its development and the response to hemi-spaying. Acta Endocr. 45 1

194. TALWALKER P.K., J.MEITES und H.MIZUNO - 1964 - Mammary tumor induction by estrogen or anterior pituitary hormones in ovarectomized rats given 7,12-dimethyl-1,2-benzantracene. Proc.Soc.exp.Biol.(N.Y.) 116 531

195. TIXIER-VIDAL A. - 1963 - Cytologie de l'Adenohypophyse. Ed.Centre Nat.Rech.Sci.(Paris) 255-273

196. TRAURIG H.H. und C.F. MORGAN - 1964 a. - The effect of ovarian and hypophysial hormones on mammary gland epithelial cell proliferation. Anat.Rec. 150 423

197. TRAURIG H.H. und C.F.MORGAN - 1964 b. - Autoradiographic studies of the epithelium of mammary gland as influenced by ovarian hormones. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.) 115 1076

198. TRENTIN J.J. und C.W.TURNER - 1948 - The experimental development of the mammary gland with special reference to interaction of the pituitary and ovarian hormones. Mo.Agr.Exp.Res.Bull. 418

199. TUCKER H.A., M.J.PAAPE und Y.N.SINHA - 1967 - Ovarectomy and suckling intensity effects on mammary nucleic acid, prolactin, and ACTH. Amer.J.Physiol. 213 262

200. TULLNER W.W. - 1963 - In: J.Nat.Cancer Inst.Monograph 12 211, zitiert nach MEITES und NICOLL 1966

201. TURNER C.W., R.WILLIAMS und G.A.HINDERY - 1963 - Growth of the udders of dairy heifers as measured by milk yield and DNA. J.Dairy Sci. 46 1390

202. WEBB J.M. und H.B.LEVY - 1955 - A sensitive method for the determination of deoxyribonucleic acid in tissues and microorganisms. J.Biol.Chem. 213 107

203. WHITE A., R.W.BONSNES und C.N.H.LONG - 1942 - Prolactin. J.Biol.Chem. 143 447

204. WILLIAMS R. und C.W.TURNER - 1961 - Growth of the calt udder using DNA as an index. J.Dairy Sci. 44 1721

205. WOLTHUIS O.L. - 1963 a. - An assay of prolactin based on a direct effect of this hormone on cells of the corpus-luteum. Acta Endocr. 42 364

206. WOLTHUIS O.L. - 1963 b. - A new prolactin assay method: Some experiments which provide arguments for its specifity. Acta Endocr. (Kbh) 42 380

207. WOLTHUIS O.L. - 1963 c. - The effects of sex steroids on the prolactin content of hypophyses and serum in rats. Acta Endocr. (Kbh) 43 137

208. WOLTHUIS O.L. und S.E.DE JONGH - 1963 - The prolactin production and release of a pituitary graft and of the hypophysis in situ. Acta Endocr. 43 271

VII. DANKSAGUNG

Diese Arbeit wurde im Hauptlaboratorium der Firma SCHERING AG, Berlin/Bergkamen, im Department Endokrinpharmakologie angefertigt.

Dem Leiter des Departments, Herrn Priv.-Doz. Dr.F. Neumann, gilt mein Dank für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und für seine wertvolle Unterstützung und freundliche Beratung bei der Durchführung der Untersuchungen.
Ebenso danke ich Herrn Prof.Dr.R.Keller für seine Diskussionsbereitschaft und für Anregungen, die den Fortgang der Arbeit positiv beeinflußten.
Ich möchte mich auch sehr herzlich bei den Mitarbeitern der Abteilung Endokrinpharmakologie der SCHERING AG, Berlin/Bergkamen, bedanken, besonders bei Fräulein Bauer, Frau Esch, Frau Naderi, Frau Pommerenke, Herrn Leidecker und Herrn Friedreich, die in hilfsbereiter Weise mit ihren Erfahrungen zur technischen Bewältigung der Arbeit beitrugen, sowie bei Frau Borch, die so freundlich war, das Manuskript zu schreiben.

VIII. LEBENSLAUF

Ich wurde geboren am 23. August 1949 in Berlin als Tochter des Gerhard Beier und seiner Ehefrau Ellen, geb. Bielicke.

Nach dem Besuch einer Berliner Grundschule erfolgte im April 1962 die Übernahme in die Realschule, die ich bis zum Abschluß der 10. Klasse besuchte, um im Anschluß daran in die Aufbaustufe des math.-naturwissenschaftlichen Zuges des Sophie-Charlotte-Gymnasiums einzutreten.

Im Februar 1969 legte ich dort meine Reifeprüfung ab.

Seit dem Sommersemester 1969 bin ich an der Freien Universität Berlin immatrikuliert. Meine Diplomvorprüfung in Biologie bestand ich mit Erfolg im Sommersemester 1971 am Fachbereich Biologie der Freien Universität Berlin, wo ich zu Beginn des Sommersemesters 1973 mein Abschlußexamen als Diplom-Biologin ablegte.

Seit Mai 1973 bin ich im Wissenschaftlichen Sekretariat der Pharma Forschung der Firma Schering AG, Berlin, als wissenschaftliche Mitarbeiterin tätig.